

Habilitationsschrift

aus der
Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
zur Erlangung der *Venia legendi* für das Fach
Theoretische Nuklearmedizin

Regulationsmechanismen der dopaminergen Synapse – *In vivo* Untersuchungen der Dopamintransporter und der Dopamin D₂-Rezeptoren im Striatum der Ratte mit der Methode der dedizierten Kleintiertomographie

vorgelegt von
Dr. rer. nat. Dipl.-Psych. Susanne Nikolaus

Nuklearmedizinische Klinik
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. Hans-Wilhelm Müller)

2006

Gewarnt durch jenen Knaben, der mit einer Muschel
das Meer zu erschöpfen sich vermaß, lasset uns aus dem
was nicht zu erschöpfen ist für unsere Zwecke das
Nötige, das Nützliche schöpfen.

J. W. von Goethe
(Bemerkungen anlässlich De Candolles Organographie Vegetale 1829-1831,
Weimarer Ausgabe 1891, II, 6)

Danksagung

Mein Dank gilt all denen, die mich bei Planung, Durchführung, Auswertung und Analyse der in dieser Schrift zusammengestellten Forschungsarbeiten unterstützt haben.

Vor allem gilt mein Dank Herrn Professor Dr. H.-W. Müller, der mich auf meinem wissenschaftlichen Weg inspiriert und gefördert hat. Seine Begriffe von der Funktionsweise des Gehirns und von der Rolle der Nuklearmedizin bei der Untersuchung der funktionellen Aspekte der Neurotransmission hatten maßgeblichen Anteil an der Konzeptualisierung dieser Arbeit und an der Analyse der einzelnen Befunde. Von ganzem Herzen danke ich ebenfalls Herrn Prof. Dr. Vosberg, der immer Zeit für mich hatte und mir über Jahre mit dem gesamten Schatz seiner Erfahrung zur Seite stand.

Außerdem danke ich Herrn PD Dr. R. Larisch, Herrn Dr. A. Wirtz, Herrn Dipl.-Phys. M. Beu und allen Kollegen aus der Nuklearmedizinischen Klinik, die an der Planung, Durchführung und Auswertung der Experimente beteiligt waren, für die überaus konstruktive und kreative Zusammenarbeit.

Ich danke Herrn Professor Dr. K. Zilles, der die Durchführung der PET-Studien und der autoradiographischen Untersuchungen mit [^{18}F]N-Methylbenperidol in den Räumlichkeiten des Instituts für Medizin im Forschungszentrum Jülich gestattet, sowie Herrn Professor Dr. H. H. Coenen, der uns den erwähnten Radioliganden zur Verfügung gestellt hat. Ausserdem danke ich allen Mitarbeitern des Institutes für Medizin (Direktor: Professor Dr. K. Zilles), des Institutes der Nuklearchemie (Direktor: Professor Dr. H. H. Coenen) und des Zentrallabors für Elektronik (Direktor: Professor Dr. H. Halling) auf dem Gelände des Forschungszentrums Jülich, die an der Durchführung der Experimente beteiligt waren. Namentlich hervorheben möchte ich dabei insbesondere Frau Dr. S. Weber (Zentrallabor für Elektronik), die die TierPET-Daten rekonstruiert und Herrn Dr. K. Hamacher (Institut für Nuklearchemie), der den bei den TierPET-Untersuchungen verwendeten Radioliganden synthetisiert hat.

Mein Dank gilt ferner Frau Dr. A. Treiber, der Leiterin der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und ihrem Stellvertreter, Herrn Dr. M. Sager sowie ihren Mitarbeiterinnen Frau Dr. P. Hofmann und Frau Dr. E. Sehrig-Lowén für ihre technische und logistische Unterstützung.

Die Durchführung der Studien wurde durch Fördergelder der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Aktenzeichen WI 1841/2-1) und der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf ermöglicht. In unseren TierSPECT-Studien wurden wir zudem durch die Firma Medice GmbH & Co.K.G unterstützt, die uns das Methylphenidat unentgeltlich zur Verfügung stellte.

Susanne Nikolaus

Düsseldorf, den 13.06.2006

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	8
Abkürzungsverzeichnis	9
Zusammenfassung	14
1. Einleitung	19
1.1. Das dopaminerge System	19
1.1.1. Anatomie der Basalganglien	19
1.1.2. Neurochemie der Basalganglien	23
1.1.3. Die dopaminerge Synapse	28
1.1.3.1. Der Dopaminmetabolismus	28
1.1.3.2. Die Dopaminrezeptoren	29
1.1.3.2.1. Klassifizierung	29
1.1.3.2.2. Struktur	31
1.1.3.2.3. Signaltransduktion	31
1.1.3.2.4. Verteilung	34
1.1.3.3. Der Dopamintransporter	35
1.1.4. Funktionelle Bedeutung der dopaminergen Synapse	
1.1.4.1. Dopaminrezeptoren	
1.1.4.2. Dopamintransporter	
1.1.5. Szintigraphische Untersuchungen der dopaminergen Synapse	40
1.1.5.1. Morbus Parkinson	

1.1.5.2.	Schizophrenie	
1.1.5.3.	Drogenabusus	
1.1.5.4.	Manie und Depression	
1.1.5.5.	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom	
1.2.	Untersuchungen des dopaminergen Systems mit der Kleintiertomographie	
1.2.1.	Einführung in die Kleintiertomographie mit PET und SPECT	
1.2.1.1.	Grundlagen der PET	
1.2.1.2.	Grundlagen der SPECT	
1.2.1.3.	Methodische Aspekte der Kleintiertomographie	
1.2.1.3.1.	Untersuchungsgebiete der dedizierten Kleintiertomographie	
1.2.1.3.2.	Tracerverfügbarkeit und Performance-Charakteristika	
1.2.1.3.3.	Partialvolumen und Spill-over	
1.2.1.3.4.	Schwächung	
1.2.1.3.5.	Rekonstruktion	
1.2.1.3.6.	Anatomische Orientierung	
1.2.1.3.7.	Anästhesie	
1.2.1.3.8.	Quantifizierung der Rezeptor- und Transporterbindung	
1.2.2.	Rezeptorstudien mit der Methode der Kleintiertomographie	
1.2.2.1.	PET	
1.2.2.2.	SPECT	
1.2.3.	Transporterstudien mit der Methode der Kleintiertomographie	
1.2.3.1.	PET	
1.2.3.2.	SPECT	
1.2.4.	Stand der <i>in vivo</i> Untersuchung des dopaminergen Systems mit dedizierter Kleintiertomographie	114
1.2.4.1.	PET	
1.2.4.2.	SPECT	
1.3.	Herleitung der Fragestellungen	

1.3.1.	Geräteevaluierung	
1.3.2.	Untersuchungen zu den Regulationsmechanismen der dopaminergen Synapse	129
2.	Experimenteller Teil	132
2.1.	Geräteevaluierung	
2.1.1.	<i>In vivo</i> Darstellung der striatalen D ₂ -Rezeptoren mit dem TierPET und Storage-Phosphor-Autoradiographie – eine Validierungsstudie mit [¹⁸ F]N-Methylbenperidol	132
2.1.1.1.	Einleitung	132
2.1.1.2.	Methode	135
2.1.1.2.1.	Versuchstiere	135
2.1.1.2.2.	Radiochemie	135
2.1.1.2.3.	Kamera	135
2.1.1.2.4.	Pet-Messungen	136
2.1.1.2.5.	<i>Ex vivo</i> Autoradiographie	141
2.1.1.2.6.	Statistische Analyse	142
2.1.1.3.	Ergebnisse	142
2.1.1.4.	Diskussion	
2.1.2.	<i>In vivo</i> Bestimmung der D ₂ -Rezeptordichte und D ₂ -Rezeptordissoziationskonstante für [¹⁸ F]N-Methylbenperidol im Striatum der Ratte	
2.1.2.1.	Einleitung	149
2.1.2.2.	Methode	
2.1.2.2.1.	Versuchstiere	151
2.1.2.2.2.	Radiochemie	151
2.1.2.2.3.	PET-Messungen	151
2.1.2.2.4.	<i>In vitro</i> Autoradiographie	154
2.1.2.3.	Ergebnisse	156
2.1.2.4.	Diskussion	
2.1.3.	Evaluierung des TierSPECTs für die <i>in vivo</i> Darstellung von Dopamintransporter- und D ₂ -Rezeptorbindung	166

2.1.3.1.	Einleitung	166
2.1.3.2.	Methode	170
2.1.3.2.1.	Versuchstiere	170
2.1.3.2.2.	TierSPECT und TierPET	170
2.1.3.2.3.	Messungen	172
2.1.3.2.4.	Auswertung	172
2.1.3.3.	Ergebnisse	
2.1.3.4.	Diskussion	
2.2.	Untersuchungen zu den Regulationsmechanismen der dopaminergen Synapse	180
2.2.1.	Longitudinaluntersuchung der striatalen D ₂ -Rezeptordichte im 6-Hydroxydopaminmodell der Ratte	180
2.2.1.1.	Einleitung	180
2.2.1.2.	Methode	185
2.2.1.2.1.	Versuchstiere	185
2.2.1.2.2.	6-Hydroxydopaminläsion	186
2.2.1.2.3.	Radiochemie	186
2.2.1.2.4.	PET-Messungen	187
2.2.1.3.	Ergebnisse	188
2.2.1.4.	Diskussion	191
2.2.2.	Quantifizierung der [¹²³ I]FP-CIT-Bindung an den striatalen Dopamintransporter nach Blockierung mit Methylphenidat	196
2.2.2.1.	Einleitung	196
2.2.2.2.	Methode	199
2.2.2.2.1.	Versuchstiere	199
2.2.2.2.2.	SPECT-Messungen	199
2.2.2.3.	Ergebnisse	203
2.2.2.4.	Diskussion	204
2.2.3.	Untersuchung der [¹²³ I]IBZM-Bindung an den D ₂ -Rezeptor der Ratte in Konkurrenz mit Haloperidol und endogenem Dopamin	209
2.2.3.1.	Einleitung	209
2.2.3.2.	Methode	215
2.2.3.2.1.	Versuchstiere	215
2.2.3.2.2.	SPECT-Messungen	215

2.2.3.3.	Ergebnisse	219
2.2.3.4.	Diskussion	
2.2.4.	Quantifizierung der [^{123}I]FP-CIT-Bindung an den striatalen DAT nach pharmakologischer Blockade des D ₂ -Rezeptors mit Haloperidol	
2.2.4.1.	Einleitung	
2.2.4.2.	Methode	
2.2.4.2.1.	Versuchstiere	
2.2.4.2.2.	SPECT-Messungen	
2.2.4.3.	Ergebnisse	
2.2.4.4.	Diskussion	
3.	Allgemeine Diskussion	227
3.1.	Geräteevaluierung	
3.2.	Untersuchungen zu den Regulationsmechanismen der dopaminergen Synapse	233
3.3.	Zusammenfassung und Wertung der Befunde	
4.	Literaturverzeichnis	243
5.	Anhang	

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. Der kortiko-striato-thalamo-kortikale Schaltkreis	25
Abb. 2. Die DAerge Synapse	30
Abb. 3. Zwei-, Drei- und Vier-Kompartiment-Konfiguration	99
Abb. 4. Strukturformeln wichtiger D ₂ -Rezeptor- und DAT-Liganden	134
Abb. 5. TierPET	136
Abb. 6. Partialvolumenkorrektur	139
Abb. 7. Spill-over-Korrektur	140
Abb. 8. Koronarschnitte durch den Kopf einer Sprague-Dawley-Ratte	143
Abb. 9. Transversalschnitte durch den Kopf einer Sprague-Dawley-Ratte	143
Abb. 10. Korrelation der mit PET und Storage-Phosphor-Autoradiographie gemessenen striatalen [¹⁸ F]M-Methylbenperidol -Konzentrationen	144
Abb. 11. <i>In vivo</i> Sättigungsbindungsanalyse der [¹⁸ F]M-Methylbenperidol-Bindung an den striatalen D ₂ -Rezeptor	156
Abb. 12. <i>In vitro</i> Sättigungsbindungsanalyse der [¹⁸ F]M-Methylbenperidol-Bindung an den striatalen D ₂ -Rezeptor	157
Abb. 13. TierSPECT	171
Abb. 14. Identifikation quasi-anatomischer Landmarken mittels retrospektiver Bildfusion	
Abb. 15. Charakteristische koronale [¹²³ I]FP-CIT- und [¹²³ I]IBZM-Bilder nach DAT- und D ₂ -Rezeptorblockade	
Abb. 16. <i>In vivo</i> Bildgebung der D ₂ -Rezeptoren in der 6-OHDA-lädierten Ratte	
Abb. 17. Ipsi- und kontralaterale D ₂ -Rezeptorbindung im Striatum der Ratte zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor und nach 6-OHDA-Läsion	
Abb. 18. Zusammenschau der einzelnen <i>in vivo</i> Sättigungsbindungskurven aus Abb. 17	
Abb. 19. Identifikation von Striatum, Neokortex und Zerebellum nach [¹²³ I]FP-CIT-Applikation	
Abb. 20. Striatale Equilibriumsquotienten (V ₃ ''; [¹²³ I]FP-CIT) der mit Methylphenidat und Vehikel behandelten Tiere	
Abb. 21. Identifikation von Striatum, Neokortex und Zerebellum nach [¹²³ I]IBZM-Applikation	
Abb. 22. Striatale Equilibriumsquotienten (V ₃ ''; [¹²³ I]IBZM) in Baseline und nach Vorbehandlung mit Haloperidol, Methylphenidat und Ethanol	
Abb. 23. Charakteristische transversale [¹²³ I]FP-CIT-Bilder unter Baseline-Bedingungen und nach Vorbehandlung mit Haloperidol	
Abb. 24. Striatale Equilibriumsquotienten (V ₃ ''; [¹²³ I]FP-CIT) in Baseline und nach Vorbehandlung mit Haloperidol	
Abb. 25. Die DAerge Synapse <i>in vivo</i>	

Tabellenverzeichnis

Tab. 1. Gebräuchliche Szintillationskristalle und ihre physikalischen Eigenschaften

Tab. 2. D₂-Rezeptor- und DAT-Verfügbarkeit *in vivo*

Tabellen im Anhang

Tab. I Dedizierte Kleintier-PET-Systeme

Tab. II. Dedizierte Kleintier-SPECT-Systeme

Tab. III. Mit Single- oder Multipinhole-Kollimatoren aufgerüstete klinische SPECT-Systeme

Abkürzungsverzeichnis

a	physikalische Kollimatorlochlänge
ACh	Azetylcholin
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom
a _e	effektive Kollimatorlochlänge
AIDA	„Advanced Image Data Analyzer“ (Raytest, Straubenhardt, BRD)
AMPH	Amphetamin
AMPT	a-Methylparatyrosin
APD	Avalanche-Photodiode
APO	Apomorphin
ASIC	anwendungsspezifischer integrierter Schaltkreis
ATP	Adenosintriphosphat
AZ	Adenylatzyklase
B	Entfernung zwischen Objekt und (Parallelloch)-Kollimator
BaFBr:Eu ²⁺	europiumdotiertes Bariumfluorobromid
BaF ₂	Bariumfluorid
B _{max}	Rezeptordichte
BGO	Wismutgermanat
BP	Bindungspotential
c	Entfernung vom Ende des Kollimators bis zur Mitte des Kristalls
C ₁ - C ₃	Kompartimente
cAMP	cyclo-Adenosin-3',5'-Monophosphat
CCD	„charge-coupled device“
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CdZnTe	Kadmiumzinktellurid
[¹¹ C]β-CIT	[¹¹ C]N-(Fluoropropyl-2β-carbomethoxy-3β-[4-iodophenyl])tropan)
[¹¹ C]CFT	[¹¹ C]2β-Carbomethoxy-3β-[4-fluorophenyl]tropan
[¹¹ C]KF18446	[¹¹ C]{[7-Methyl-](E)-8-(3, 4, 5-trimethoxystyryl)-1, 3, 7-trimethylxanthin
[¹¹ C]MDL100907	[¹¹ C](R)-(+)-a-(2,3-Dimethoxyphenyl)-1-[2-(4-fluoro-phenyl)ethyl]-4-piperidin-methanol
[¹¹ C]MSP	[¹¹ C]Methylspiperon
[¹¹ C]NMPYB	[¹¹ C]N-Methylpyrrolidinylnbenzilat
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
COOH	Carboxylgruppe
CPU	„central processing unit“
[¹¹ C]PE21	[¹¹ C]N-(3-iodoprop-2E-enyl)-2β-carbomethoxy-3β-(4'-methylphenyl)-nortropan
[¹¹ C]PK11195	[¹¹ C]1-(2-Chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolin-carboxamid
[¹¹ C]Ro15-1788	[¹¹ C]Ethyl-8-fluoro-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo[1,5a]-[1,4]benzodiazepin-3-carboxylat
[¹¹ C]RTI-32	[¹¹ C](2β-Carbomethoxy-3β-[4-iodophenyl])tropan

[¹¹ C]SCH23390	[¹¹ C]R-(+)-8-chloro-2, 3, 4, 5-tetrahydro-3-methyl-5-phenyl-1H-3-benzazepin-7-ol
CT	Computertomographie
%CV	Varianzkoeffizient
[¹¹ C]WIN35,428	[¹¹ C]2β-Carbomethoxy-3β-[4-fluorophenyl]tropan
d	physikalischer Lochdurchmesser des Kollimators
d _e	effektiver Pinholedurchmesser
D	Durchmesser des Detektorrings
2D	zweidimensional
3D	dreidimensional
DA	Dopamin
DAT	Dopamintransporter
DOI	„depth of interaction“
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
DOPAC	Dihydroxyphenylelessigsäure
DVR	Verteilungsvolumen des Radiotracers im Equilibrium
EKG	Elektrokardiogram
Enk	Enkephalin
f	fokale Länge des Kollimators
f ₁ – f ₂	freie Radiotracerfraktionen
FBP	„filtered back projection“ (Rekonstruktionsalgorithmus)
[¹⁸ F]DOPA	[¹⁸ F]Dihydroxyphenylalanin
[¹⁸ F]ESP	[¹⁸ F]Ethylspiperon
[¹⁸ F]FBP	[¹⁸ F]Fluoropropylepidepid
[¹⁸ F]FMB	[¹⁸ F]1[3-(4'Fluorobenzoyl)propyl]-4-(2-keto-3-methyl-1-benzimidazoliny)l)piperidin)
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FOV	„field of view“, Messfeld
FWHM	„full width at half maximum“, Halbwertsbreite
G	Lochgeometriefaktor bei Parallelochkollimation
GABA	γ-Aminobuttersäure
GAT	GABA-Transporter
GBR12909	1-2-[bis(4-Fluorophenyl)methoxy]ethyl-4-[3-phenylpropyl]piperazin-dihydrochlorid
GDNF	„glial cell line-derived neurotrophic factor“
GDP	Guanosindiphosphat
GIRK	„G protein activated inwardly rectifying K ⁺ channels“
GLU	Glutamat
GLYT	Glycintransporter
GP _e	Globus pallidus externus
GP _i	Globus pallidus internus

GSO	Gadoliniumoxyorthosilikat
GTP	Guanosintriphosphat
HAL	Haloperidol
[³ H]NPA	[³ H]Propylnorapomorphin
HIDAC	„high density avalanche chamber“
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
5-HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
HVA	Homovanillinsäure
IA	Ibotensäure
[¹²³ I]IBF	[¹²³ I](S)-5-Iodo-7-N-[(1-ethyl-2-pyrrolidinyl)methyl]carboxamido-2,3-dihydrobenzofuran
[¹²³ I]FP-CIT	[¹²³ I]N-?-Fluoropropyl-2β-carbomethoxy-3β-(4-iodophenyl)nortropan
[¹²³ I]IBZM	[¹²³ I](S)-2-Hydroxy-3-iodo-6-methoxy-N-[(1-ethyl-2-pyrrolidinyl)methyl]benzamid
IP ₃	Inositoltriphosphat
IPR	„Imaging Plate Reader“ (Fuji Imaging Systems, Clichy, Frankreich)
[¹²³ I]IPT	[¹²³ I]N-(3-Iodopropen-2-yl)-2β-carbomethoxy-3β-(4-chlorophenyl)tropan
[¹²⁵ I]PE2I	[¹²⁵ I](E)-N-3-Iodoprop-2-enyl)-2-carbomethoxy-3-(4'-methylphenyl)-nortropan
[¹²⁵ I]RTI-55	[¹²⁵ I]3β-(4-iodophenyl)-tropan-2β-carboxylsäuremethylester
[¹²⁵ I]VEGF	¹²⁵ I-markierter vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor
K	Affinität
K ₁ – k ₆	Ratenkonstanten im Drei-Kompartiment-Modell
KA	Kaininsäure
K _D	Dissoziationskonstante
K _{endo}	Affinität des endogenen Liganden
K _{exo}	Affinität des exogenen Liganden
k _{off}	Dissoziationskonstante
k _{on}	Assoziationskonstante
[L]	Konzentration des freien Liganden
LEHR	„low energy high resolution“ (Kollimator)
LEUHR	„low energy ultra-high resolution“ (Kollimator)
LGSO	Lutetiumgadoliniumoxyorthosilikat
LMRGlc	lokale Glucosemetabolismusrate
[LR]	Konzentration der Rezeptor-Liganden-Komplexe
LSO	Lutetiumoxyorthosilikat
LYSO	Lutetiumyttriumoxyorthosilikat
MAO	Monoaminoxidase
MAP	„maximum a posteriori probability“ (Rekonstruktionsalgorithmus)

MAMPH	Metamphetamin
MC	„multi-channel“
mGLUR-5	metabotropher Glutamat-5-Rezeptor
MLEM	„maximum likelihood expectation maximization“ (Rekonstruktionsalgorithmus)
MP	Methylphenidat
MPI-Tool	„Multi Purpose Imaging Tool“ (Advanced Tomo Vision, Erftstadt, BRD)
3-MT	3-Methoxytyramin
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
MSA	Multisystematrophie
MW	Mittelwert
n	Brechungsindex
NA	Noradrenalin
0.9% NaCl	physiologische Kochsalzlösung
NaI	Natriumiodid
NET	Norepinephrintransporter
NH ₂	Aminogruppe
NIS	Natriumiodidsymporter
n.m.	nicht mitgeteilt
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
N _{ph}	Photonenausbeute
NPP	Nuc. pedunculopontinus
5-OHDA	2,4,5-Trihydroxyphenylethylamin
6-OHDA	2,4,5-Trihydroxyphenylamin, 6-Hydroxydopamin
OSEM	„ordered subset expectation maximization“ (Rekonstruktionsalgorithmus)
PET	Positronenemissionstomographie
PH-MRP	Pinhole-„median root prior“ (Rekonstruktionsalgorithmus)
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PMT	Photomultiplier
PNT	plasmamembrangebundener Neurotransmittertransporter
PS	positionssensitiv
PROT	Prolintransporter
PWLS	„penalized weighted least squares“ (Rekonstruktionsalgorithmus)
QA	Quinolinsäure
QE	Quanteneffizient
R	„resolution“, Auflösung

[R]	Konzentration der freien Rezeptoren
RAMLA	„row action maximum likelihood“ (Rekonstruktionsalgorithmus)
rB16a	Taurintransporter
REF	„reference region“
R _g	geometrische Auflösung
R _i	intrinsische Auflösung
ROI	„region of interest“
ROR	Rotationsradius
S	Sensitivität
SA	spezifische Aktivität
SART	„simultaneous algebraic reconstruction technique“ (Rekonstruktionsalgorithmus)
SD	Standardabweichung
SERT	Serotonintransporter
SN _c	Substantia nigra compacta
SN _r	Substantia nigra reticulata
SP	Substanz P
SPECT	„single photon emission computed tomography“
ST	Subthalamus
t	Szintillationzeit
TAURT	Taurintransporter
[^{99m} Tc]DPD	[^{99m} Tc]3,3-Diphosphono-1,2-propandicarbonsäure
[^{99m} Tc]HMPAO	[^{99m} Tc]Hexamethylpropylenaminoxim
[^{99m} Tc]MDP	[^{99m} Tc]Methyldiphosphonat
Thal	Thalamus
[^{99m} Tc]TRODAT	[^{99m} Tc]([2-[[2-[[[3-(4-Chlorophenyl)-8-methyl-8-azabicyclo[3,2,1]oct-2-yl]methyl]2-mercapto-ethyl]amino]ethyl]-am-ino]-ethan-etio-lato-(3-]oxo-[1R-(exo-exo)])
TH	Tyrosinhydroxylase
TM	Transmembrandomäne
TMAE	Tetrakis-Dimethylaminoethylen
V ₁ – V ₃	Verteilungsvolumina in den einzelnen Kompartimenten
V ₃ '	Schätzwert für das Bindungspotential
V ₃ ''	Schätzwert für das Bindungspotential
VNT	vesikulärer Neurotransmittertransporter
x	Entfernung zwischen Objekt und Pinhole
y	Septendicke
YAP	Yttriumaluminiumperovskit

Z_{eff}	effektive Kernladungszahl
a	Akzeptanzwinkel der Pinhole-Apertur
λ	Emissionswellenlänge
μ	Schwächungskoeffizient
ρ	Dichte

Zusammenfassung

Für die *in vivo* Untersuchung der dopamin(DA)ergen Synapse gewannen während der letzten zwei Jahrzehnte in zunehmendem Maße bildgebende Verfahren wie die Positronen- (PET) und die Einzelphotonenemissionscomputertomographie (SPECT) an Bedeutung. Dabei zeigten Untersuchungen der Dopamintransporter(DAT)- und D₂-Rezeptorbindung am Menschen, dass verschiedene neurologische und psychiatrische Erkrankungen wie Morbus Parkinson, Schizophrenie, Depression und das Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom (ADHS) mit Funktionsstörungen des DAergen Systems assoziiert sind. Fehlfunktionen der DAergen Neurotransmission können unter anderem auf Veränderungen in der synaptischen DA-Konzentration und in den Verfügbarkeiten der präsynaptischen Transporter- oder postsynaptischen Rezeptorbindungsstellen zurückzuführen sein. Zahlreiche Befunde legen dabei eine Beziehung zwischen der synaptischen Neurotransmitterkonzentration und der Dichte der prä- wie postsynaptischen Bindungsstellen nahe; die genauen Zusammenhänge sind hierbei unbekannt.

Unser Ziel ist die Entwicklung eines *in vivo* Modells für die Regulationsmechanismen der DAergen Synapse. Die im Folgenden beschriebenen Arbeiten stellen die ersten grundlegenden Schritte in diese Richtung dar und untersuchten D₂-Rezeptor- und DAT-Verfügbarkeit unter verschiedenen experimentellen Bedingungen mit den dedizierten hochauflösenden Kleintierkameras TierPET und TierSPECT. Als D₂-Rezeptorradioliganden wurden [¹⁸F]1[3-(4'Fluorobenzoyl)propyl]-4-(2-keto-3-methyl-1-benzimidazoliny)l)piperidin ([¹⁸F]FMB) oder [¹²³I](S)-2-Hydroxy-3-iodo-6-methoxy-N-[(1-ethyl-2-pyrrolidiny)l)-methyl]benzamid ([¹²³I]IBZM) eingesetzt. Die Untersuchungen zur DAT-Verfügbarkeit wurden mit [¹²³I]N-?-Fluoropropyl-2β-carbomethoxy-3β-(4-iodophenyl)nortropan ([¹²³I]FP-CIT) durchgeführt.

Da es sich bei TierPET und TierSPECT um neue bildgebende Systeme handelte, waren zu Beginn methodische Untersuchungen erforderlich, die die Validierung dieser Scanner für die Durchführung der beabsichtigten Rezeptor- und Transporterbindungsstudien im Striatum der Ratte zum Ziel hatten. Dabei wurde als erstes gezeigt, dass die *in vivo* mit PET und *ex vivo* mit der Storage Phosphor Autoradiographie gemessenen striatalen [¹⁸F]FMB-Konzentrationen eine signifikante positive Korrelation ($r = 0.824$, $p = 0.002$) aufwiesen und nach Vornahme von Partialvolumen- und Spill-over-Korrekturen quantitativ übereinstimmten. In einer weiteren

Untersuchung wurde nachgewiesen, dass die *in vivo* mit PET und *in vitro* mit Storage Phosphor Autoradiographie ermittelten striatalen Werte für Rezeptordichte ($B_{\max}$) und Dissoziationskonstante (K_D) in der gleichen Größenordnung liegen (PET: $B_{\max} = 16.03$ fmol/mg, $K_D = 6.2$ nM; Autoradiographie: $B_{\max} = 70.1$ fmol/mg, $K_D = 7.9$ nM), mithin *in vivo* analog zu *in vitro* Sättigungsbindungsanalysen bestimmt werden können. Ferner wurde gezeigt, dass DAT- und D_2 -Rezeptorbindung mit dem TierSPECT und [^{123}I]FP-CIT beziehungsweise [^{123}I]IBZM als Radioliganden quantifiziert werden können und dass die Überlagerung der [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Scans mit Knochenstoffwechsel- und Perfusionsbildern eine zuverlässige Identifikation der Zielregionen relativ zur Schädelhöhle und zur Lage der Orbitae mit den Harderschen Drüsen erlaubt.

Unsere Studien zu den Regulationsmechanismen der DAergen Synapse hatten zunächst die Quantifizierung der D_2 -Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte und nach unilateraler 6-Hydroxydopamin(6-OHDA)-Läsion der nigrostriatalen Faserverbindungen zum Inhalt. Zur Betrachtung des Zeitverlaufs der 6-OHDA-induzierten Veränderungen der D_2 -Rezeptordichte wurden die Untersuchungen mit TierPET und [^{18}F]FMB unmittelbar vor der Läsion (Tag 0) sowie an Tag 2 und Tag 14 nach der Applikation des Neurotoxins durchgeführt. Diese erste Longitudinaluntersuchung der ipsi- und kontralateralen D_2 -Rezeptorbindung an der 6-OHDA-lädierten Ratte zeigte eine signifikante, zeitabhängige, bilaterale Zunahme der $B_{\max}$ -Werte von beidseitig 19 an Tag 0 auf ipsilateral 29.9 und kontralateral 28.6 fmol/mg an Tag 14. Mit einem K_D von 6.2 nM entspricht dies einem Bindungspotential ($BP = B_{\max}/K_D$) von 3 und damit einem $V_3'' (= BP - 1)$ von 2 in der Baseline-Bedingung. An Tag 14 betrugen ipsi- und kontralaterales BP 4.8 beziehungsweise 4.6. Dies entspricht V_3'' -Werten von 3.8 beziehungsweise 3.6.

In der zweiten Untersuchung wurde die DAT-Verfügbarkeit mit TierSPECT und [^{123}I]FP-CIT im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte und nach pharmakologischer Blockade mit Methylphenidat (MP) quantifiziert. Für die unbehandelte Ratte ergab sich ein mittleres V_3'' von 1.08. Nach Vorbehandlung mit zwei verschiedenen MP-Dosen (3 mg/kg, 10 mg/kg) sank der striatale V_3'' -Wert auf 0.56 (3 mg/kg) beziehungsweise 0.24 (10 mg/kg).

In der dritten Untersuchung folgte die Quantifizierung der D_2 -Rezeptorverfügbarkeit mit TierSPECT und [^{123}I]IBZM im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte, nach pharmakologischer Blockade mit Haloperidol (HAL) sowie nach Erhöhung der synaptischen DA-

Konzentration durch Vorbehandlung mit MP. Für die unbehandelte Ratte ergab sich ein V_3'' von 1.42. Die Vorbehandlung mit HAL und MP führte zu einer Reduktion des V_3'' -Wertes auf 0.54 beziehungsweise 0.98. Wir nahmen eine Abschätzung für die MP-induzierte Zunahme der endogenen DA-Konzentration vor, indem wir die prozentuale Abnahme der exogenen Ligandenbindung mit dem Quotienten der Rezeptoraffinitäten (K_{exo}/K_{endo}) multiplizierten. Dabei zeigte sich, dass die 30%ige Reduktion der [123 I]IBZM-Bindung mit einer durchschnittlichen Zunahme der synaptischen DA-Konzentration um das Dreifache (auf $331.72 \pm 317.54\%$ der Ausgangskonzentration) einherging.

Gegenstand der vierten Untersuchung war die Quantifizierung der DAT-Verfügbarkeit mit TierSPECT und [123 I]FP-CIT im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte sowie nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit HAL. Für die unbehandelte Ratte ergab sich ein V_3'' von 1.21. Die Vorbehandlung mit HAL führte zu einer Reduktion des V_3'' -Wertes auf 0.93.

Unsere Befunde zeigen, dass mit TierPET und TierSPECT *in vivo* Untersuchungen der striatalen D₂-Rezeptor- beziehungsweise DAT-Bindungen durchgeführt werden können. Dies gilt für die normale, unbehandelte Ratte ebenso wie für den Zustand nach 6-OHDA-Läsion oder pharmakologischer Challenge. Für die repetitive Untersuchung der D₂-Rezeptorbindung mit dem TierPET wurde dabei erstmalig die *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse eingesetzt, die die separate Quantifizierung von K_D und B_{max} ermöglicht. Mit der retrospektiven Fusionsmethode wurde überdies ein Verfahren entwickelt, dass die Definition von ROIs und REFs relativ zur Lage der Schädelhöhle und zu den Orbitae mit den Harderschen Drüsen erleichtert. Im Weiteren bestimmten wir die D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte, die D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach 6-OHDA-induzierter Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen und Reduktion der synaptischen DA-Konzentration, die D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit HAL, die D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit MP, die DAT-Verfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte, die DAT-Verfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit MP sowie die DAT-Verfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit HAL. Relativ zur D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte ergab sich dabei nach

6-OHDA-Läsion eine Zunahme der D₂-Rezeptorbindung um 55 (ipsilateral) beziehungsweise 49% (kontralateral), während die Vorbehandlung mit HAL (1 mg/kg) eine Reduktion der D₂-Rezeptorbindung um 60% hervorrief. Relativ zur DAT-Verfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte war die DAT-Bindung nach Vorbehandlung mit MP um 50 (3 mg/kg) beziehungsweise 80% (10 mg/kg) reduziert. Die Vorbehandlung mit MP (10 mg/kg) führte auf der postsynaptischen Seite zu einer Reduktion der D₂-Rezeptorbindung um 30%, während sich präsynaptisch durch die Vorbehandlung mit HAL eine Reduktion der DAT-Bindung um 23% ergab.

Aus unserem ersten Befund folgt, dass die Reduktion an synaptisch verfügbarem DA nach 6-OHDA-Applikation durch eine bilaterale Zunahme der postsynaptischen D₂-Rezeptoren kompensiert wird. Der Hinweis auf einen kontralateralen Anstieg der D₂-Rezeptorbindung unterstreicht dabei die Bedeutung der kontralateralen Hemisphäre für Kompensations- und Erholungsprozesse im 6-OHDA-Modell der Ratte. Es wird allgemein angenommen, dass der therapeutische Effekt von MP bei der Behandlung von ADHS-Patienten durch die Blockierung des präsynaptischen DATs mediiert wird, die ihrerseits eine Erhöhung der synaptischen DA-Konzentrationen zur Folge hat. In unserer zweiten Untersuchung führte die Applikation von MP (dosisabhängig) zu einer Reduktion der DAT-Bindungsstellen und damit zu einer Verringerung der [¹²³I]FP-CIT-Bindung an den striatalen DAT. Da der endogene mit dem exogenen Liganden um die postsynaptischen Bindungsstellen kompetitiert, zeitigt die MP-Applikation in unserer dritten *in vivo* Untersuchung eine Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung an den striatalen D₂-Rezeptor. HAL bindet sowohl an die postsynaptischen als auch an die präsynaptischen D₂-Rezeptoren. In unserer dritten Untersuchung führte die Applikation von HAL zu einer Reduktion der D₂-Rezeptorbindungsstellen und damit zu einer Verringerung der [¹²³I]IBZM-Bindung an den striatalen D₂-Rezeptor. Durch die präsynaptische D₂-Autorezeptorblockade wird der negative Feedback-Mechanismus außer Kraft gesetzt, der die Synthese und Freisetzung von endogenem DA reguliert. Hieraus resultiert eine vermehrte Ausschüttung von DA in den synaptischen Spalt. In unserer vierten Untersuchung beobachteten wir nach Applikation von HAL eine Reduktion der [¹²³I]FP-CIT-Bindung an den striatalen DAT. Damit liefert unsere Untersuchung weitere Hinweise darauf, dass auch [¹²³I]FP-CIT durch endogenes DA verdrängt zu werden vermag.

DAT- und D₂-Rezeptorblockade können *in vivo* durch die (dosisabhängige) Reduktion der [¹²³I]FP-CIT- beziehungsweise der [¹²³I]IBZM-Bindung quantifiziert werden. Die Zunahme an

verfügbarem DA durch MP-Challenge führt zu einer Reduktion der verfügbaren postsynaptischen Bindungsstellen; damit können Veränderungen der synaptischen DA-Konzentration über deren Einfluss auf die Bindungsverhältnisse an der postsynaptischen Endigung indirekt abgeschätzt werden. Unsere Resultate bieten zudem erste Hinweise auf eine Eignung von [¹²³I]FP-CIT für die Untersuchung fluktuierender DA-Konzentrationen im synaptischen Spalt.

Bildgebende Untersuchungen der prä- und/oder postsynaptischen Endigung sind nicht nur für die *in vivo* Evaluierung neuer Radioliganden, sondern auch für die *in vivo* Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Rezeptor-/Transporterbindung und Veränderungen in der synaptischen DA-Konzentration von zukunftsweisender Bedeutung. Dies betrifft insbesondere Tiermodelle für ADHS, das durch eine Dysregulation der synaptischen DA-Konzentration gekennzeichnet ist. An Tiermodellen für neurodegenerative Erkrankungen wie etwa Morbus Parkinson können überdies mit dieser Methode Langzeituntersuchungen von Prozessen durchgeführt werden, die mit der Zerstörung und Erholung des synaptischen DAs in Zusammenhang stehen. Dies gilt auch für die Untersuchung kompensatorischer Mechanismen wie die Entwicklung der Rezeptorsupersensitivität, wie sie nach neurotoxischer Läsion der nigrostriatalen Faserverbindungen in Erscheinung tritt. Eine interessante Perspektive ist zudem die aufeinanderfolgende *in vivo* Untersuchung verschiedener Neurotransmittersysteme an derselben Ratte, die über die DAerge Synapse hinaus Einblicke in das Ineinandergreifen zerebraler Regulationsmechanismen bietet.

1. Allgemeine Einleitung

1.1. Das dopaminerge System

1.1.1. Anatomie der Basalganglien

Vieussens beschrieb in seiner *Neurographia universalis* erstmalig „antere und posteriore Gehirnganglien“ im menschlichen Zentralnervensystem (Vieussens, 1685). Mit dem Begriff Stamm- oder Basalganglien bezeichnet die klassische Neuroanatomie verschiedene Ganglienzellkörperansammlungen in Vorderhirn, Mesenzephalon und Thalamus, wobei im Wesentlichen Nuc. caudatus, Putamen, Globus pallidus, Substantia nigra und Nuc. subthalamicus unter diesem Terminus zusammengefasst werden. Häufig wird ebenfalls das Claustrum, seltener das Corpus amygdaloideum in den Begriff eingeschlossen. Gleiches gilt für Nuc. accumbens, Nuc. ruber, diagonales Band nach Broca und Tuberculum olfactorium (Dana, 1908, Mettler, 1968, Heimer & Wilson, 1975, Carpenter, 1981, Brodal, 1981, Schmidt, 1983, McKenzie, 1984, Albanese, 1990, Pasik et al., 1991a,b).

Corpus striatum. Zu den Endhirnstrukturen der Basalganglien gehört der Nuc. caudatus, an dem beim Menschen ein Kopf, ein Körper und ein Schwanz unterschieden wird. Der verdickte Kopf sitzt hierbei dem Thalamus auf, während der Körper den Mittelteil des Seitenventrikels begrenzt und der Schwanz das Dach des Unterhorns bildet. Der Nuc. caudatus ist vom Thalamus durch den Sulcus terminalis getrennt, der somit die Grenze zwischen Diencephalon und Endhirn bezeichnet (Ferner, 1979). Der Nuc. lentiformis hat die Gestalt einer bikonvexen Linse und ist dem Nuc. caudatus seitlich angelagert. Sein äußerer Teil heißt Schale oder Putamen; sein innerer Teil ist der Globus pallidus, der entwicklungsgeschichtlich dem Zwischenhirn zugerechnet wird. Die innere Region des Globus pallidus wird bei Ratte und Katze als Nuc. entopeduncularis bezeichnet. Putamen und Schwanzkern sind durch Stränge grauer Substanz (Striae) miteinander verbunden und werden daher als Streifenhügel oder Streifenkörper (Corpus striatum) bezeichnet (Ferner, 1979). Das Corpus striatum empfängt die Mehrzahl aller Afferenzen zu den Basalganglien, die ihren Ursprung im Wesentlichen in den intralaminären Thalamuskernen, in der Substantia nigra, in der ventralen tegmental Area und im Neokortex nehmen. Hierbei erhält

insbesondere das Putamen Zuflüsse von primär motorischem Kortex, prämotorischem Gebiet des Gyrus arcuatus und supplementär motorischer Area (Kemp & Powell, 1970, Künzle, 1978, Miyata & Sasaki, 1984), aber auch vom primär somatosensorischen Kortex und somatosensorischen Assoziationsfeldern (Kemp & Powell, 1970, Künzle, 1977). Weiterhin erhält das Neostriatum Zuflüsse aus dem Globus pallidus, von den Raphekernen, aus dem Nuc. subthalamicus und vom tegmental Nuc. pedunculo pontinus (Parent et al., 1990).

Die striatalen Efferenzen führen zur kaudolateralen Pars reticularis der Substantia nigra und zu den kaudalen und ventrolateralen zwei Dritteln des inneren und äußeren Globus pallidus (Nauta & Mehler, 1966, Hedreen & DeLong, 1991). In den Lücken zwischen den streifenförmigen Verbindungen von Putamen und Nuc. caudatus verlaufen alle langen Bahnen von der Hirnrinde zu tieferen Zentren und umgekehrt. Diese Fasermassen zwischen Thalamus und Nuc. caudatus einerseits und Nuc. lentiformis andererseits bilden die sogenannte Capsula interna (Ferner, 1979).

Das Corpus striatum weist eine komplexe mosaikähnliche Struktur auf: im Jahre 1976 beschrieben Pert und Mitarbeiter sogenannte „Patches“, die sich gegen den Hintergrund der umgebenden Matrix abhoben (Pert et al., 1976). Die Patch-Matrix-Verteilung besteht im gesamten dorsalen und ventralen Striatum (Gerfen et al., 1984); ausgenommen ist lediglich die Schalenregion des Nuc. accumbens (Voorn et al., 1989). Die in Patch- und Matrix-Kompartimenten organisierten Afferenzen gehen aus jeweils verschiedenen Regionen des Kortex, des Mesenzephalon und des thalamischen intralaminären Komplexes hervor (Goldman-Rakic, 1982). Ebenso entsenden Patch- und Matrix-Abschnitte ihre Efferenzen in verschiedene Zielregionen: so projizieren diese vornehmlich zu den γ -Aminobuttersäure(GABA)-haltigen Zellen der Pars reticulata, während jene in erster Linie Efferenzen zu den dopamin(DA)ergen Zellen der Pars compacta der Substantia nigra entsenden (Gerfen, 1984, Jimenez-Castellanos & Graybiel, 1987). Die Verteilung striataler Neurotransmitter wie Somatostatin, Enkephalin, Dynorphin oder Substanz P koinzidiert im Übrigen in einigen Regionen mit der Patch-Matrix-Organisation, während sich in anderen keine Überstimmung findet (Graybiel et al., 1981). Von der Funktion der einzelnen Neurotransmitter innerhalb der stammganglionären Faserverbindungen wird in Kapitel 1.1.2. die Rede sein.

Ventrales Striatum. Zum ventralen Striatum gehört der erstmalig in Monotremata aufgefundene Nuc. accumbens (Ziehen, 1897). Er erhält Afferenzen von Neokortex,

Mesenzephalon und Thalamus, während er seinerseits zum ventralen Pallidum und zur Substantia nigra projiziert. Darüberhinaus sendet er Efferenzen in das Gebiet des Pedunculus cerebellaris superior, zum medialen und lateralen Hypothalamus sowie zu verschiedenen Regionen des Hirnstamms wie dem dorsalen motorischen Vaguskern und dem Nuc. tractus solitarius (Conrad & Pfaff, 1976). Neben dem Nuc. accumbens umfaßt das ventrale Striatum auch das Tuberculum olfactorium und angrenzende Gebiete des basalen Vorderhirns (Heimer, 1976). Das ventrale Striatum steht in engem Zusammenhang mit dem Caudatoputamen; außerdem erhält es Afferenzen von Hippokampus und Corpus amygdaloideum, während die Efferenzen unter anderem über den ventralen Globus pallidus zu den Kerngebieten des Thalamus verlaufen (Aggleton et al., 1987, Russchen et al., 1987, Haber et al., 1990).

Thalamus. Der Thalamus nimmt den größten Teil des Dienzephalon ein. Zwei nahezu senkrechte Marklamellen gliedern ihn in einzelne Kerngruppen, wobei die äußere Marklamelle (Lamina medullaris externa) parallel zum hinteren Schenkel der Capsula interna verläuft. Die Basalganglien erhalten somatotopische Zuflüsse aus allen Gebieten des zerebralen Kortex und projizieren ihrerseits über den Thalamus zum Neokortex zurück (Graybiel, 1984). Die Basalganglien und die mit ihnen assoziierten kortikalen und thalamischen Gebiete sind in parallelen, weitgehend voneinander getrennten Neuronenkreisen organisiert (DeLong & Georgopoulos, 1981). Dabei enthält jeder Kreis hochspezialisierte Kanäle und Subkanäle, die die gleichzeitige Prozessierung einer großen Anzahl verschiedener Variablen ermöglichen und die Einflüsse verschiedener Hirnregionen miteinander koordinieren. Auch hiervon wird nachstehend ausführlich die Rede sein.

Nuc. ruber. Der Nuc. ruber ist der größte Kern des Mittelhirns; er liegt in Höhe der Vierhügelplatte und reicht vom kaudalen Rand des Colliculus superior bis zum Zwischenhirngebiet. Die in den Nuc. ruber eintretenden Neurone aus dem Nuc. dentatus des Kleinhirns enden vornehmlich in rostralen, jene aus den Nucc. emboliformis und globosis in kaudalen Kernanteilen. Hierbei projizieren wiederum die dorsomedialen Abschnitte über den Tractus rubrospinalis zum Halsmark, während die ventrolateralen Abschnitte das Lumbal- und die intermediären das Thorakalmark erreichen (Wilson, 1912). Auf diese Weise projiziert das Zerebellum über den Nuc. ruber indirekt und in somatotopischer Ordnung in das Rückenmark, wobei sowohl im Brachium conjunctivum ascendens als auch im Tractus rubrospinalis die Seite gekreuzt wird. Die zweite wichtige Afferenz erhält der Nuc. ruber aus den motorischen Arealen

der Großhirnrinde, insbesondere vom Gyrus praecentralis. Die wichtigste efferente Projektion des Nuc. ruber ist der extrapyramidale Tractus rubrospinalis (Wilson, 1912). Diese Bahn wirkt exzitatorisch auf die Flexor- und inhibitorisch auf die Extensormotoneurone der Gegenseite; mithin bewirkt die Stimulierung des Nuc. ruber eine Beugung der kontralateralen Extremitäten (Schmidt, 1983). Einige der in der ventralen Haubenkreuzung nach Forel zur Gegenseite ziehenden Nervenfasern verlassen den Tractus rubrospinalis im oberen Ponsbereich und treten als Tractus rubrocerebellaris über den oberen Kleinhirnstiel ins Zerebellum ein. Sie projizieren hauptsächlich zu dem aus den Nucc. emboliformis und globosis bestehenden Nuc. interpositus und stellen eine somatotopisch organisierte rubrozerebelläre Rückkopplungsschleife dar. Andere gekreuzte absteigende Neurone ziehen als Tractus rubrobulbaris zu den Nucc. reticularis lateralis und facialis der Medulla oblongata, während ungekreuzte Efferenzen in die zentrale Haubenbahn (Tractus tegmentalis centralis) ziehen und zum ipsilateralen Nuc. olivaris inferior projizieren. Rückkopplungskreise wie diese gewährleisten die Steuerung und Korrektur ziel- und stützmotorischer Bewegungen, an deren Koordinierung das Zerebellum maßgeblich beteiligt ist (Mayr, 1979).

Subthalamus. Beim Subthalamus handelt es sich um eine ventral vom Thalamus gelegene Region, die seitlich von der Capsula interna und medial vom Hypothalamus begrenzt wird (Gruber, 1979). Seine wesentlichen Afferenzen erhält der Nuc. subthalamicus über den Fasciculus subthalamicus aus dem lateralen Teil des Globus pallidus und aus der Substantia nigra (Kita & Kitai, 1985). Weitere Zuflüsse erhält er vom Nuc. pedunculopontinus (Nomura et al., 1980) und vom dorsalen Raphekern (Moore et al., 1978). Seine Efferenzen verlaufen zur Pars reticulata der Substantia nigra, zu beiden Segmenten des Globus pallidus und - bei der Ratte - zum Nuc. entopeduncularis (Deniau et al., 1978, Nauta & Cole, 1978, Kita & Kitai, 1987).

Substantia nigra. Die Substantia nigra befindet sich zwischen Haube und Crus cerebri. Dorsal weist sie eine Region von schwarzer Färbung (Pars compacta) auf, deren dicht gelagerte Nervenzellen ein melanotisches Pigment enthalten. Ventral folgt eine breitere melaninfreie Schicht von rötlicher bis rotbrauner Färbung (Pars reticularis), deren Nerven- und Neuroglialzellen in großer Menge Abnutzungspigment enthalten (Mayr, 1979). Ein Gebiet dendritischer Verzweigungen ist beiden Schichten gemeinsam (Björklund & Lindvall, 1975). Die Afferenzen der Substantia nigra entstammen im Wesentlichen dem Neostriatum; überdies empfängt die Pars reticulata der Substantia nigra Zuflüsse aus dem Nuc. subthalamicus (Deniau

et al., 1978, Kita & Kitai, 1985, 1987). Die von der Substantia nigra zum Neostriatum ziehenden Efferenzen haben ihren Ursprung in den großen Zellen der Pars compacta, verlaufen zunächst nach rostral zum Feld H nach Forel, im Anschluss nach lateral, dorsal und rostral über den Nuc. subthalamicus hinweg, durchziehen Capsula interna und Globus pallidus und erreichen schließlich Nuc. caudatus und Putamen; auch führen Projektionen zum Nuc. pedunculo pontinus und zum Colliculus superior (Faull & Mehler, 1978, Beckstead & Frankfurter, 1982, Beckstead, 1983). Einzelne Befunde legen ferner nigrothalamische Faserverbindungen nahe; hierbei scheinen die lateralen Anteile der Pars reticularis, die Afferenzen vom Putamen erhalten, auch zum lateralen Teil des Nuc. ventralis anterior zu projizieren (Carpenter et al., 1976).

Ventrale tegmentale Area. Die ventrale tegmentale Area liegt bei der Ratte dorsal zur Substantia nigra. Sie erhält Zuflüsse aus dem Nuc. accumbens, sowie aus Präfrontalkortex, Amygdala, Hypothalamus, Thalamus, Colliculus superior und den Raphekernen (Phillipson, 1979). Die wichtigsten efferenten Projektionen verlaufen zurück zum Nuc. accumbens, sowie zu Okzipitalkortex und Zingulum (Takada & Hattori, 1987).

1.1.2. Neurochemie der Basalganglien

Im Jahre 1986 beschrieben Alexander und Mitarbeiter eine Anzahl diskreter, somatotopisch organisierter Kreisläufe, die die gleichzeitige Verarbeitung einer großen Anzahl unterschiedlicher Informationen erlauben (Alexander et al., 1986). Dabei sind präfrontale Afferenzen mit Relais-Stationen in den Basalganglien verbunden, die ihrerseits zum Thalamus projizieren, von dem wiederum wiederum Rückkopplungsschleifen zurück zu kortikalen Arealen verlaufen. Es wird angenommen, dass dieser kortiko-striato-thalamo-kortikale Kreislauf das anatomische Substrat für eine Vielzahl exekutiver Funktionen darstellt. Die vom Kortex ausgehenden Afferenzen sind glutamat(GLU)erg und wirken exzitatorisch auf Nuc. caudatus, Putamen und Nuc. subthalamicus (Spencer et al., 1976). Das Striatum entsendet eine „direkte“ und eine „indirekte“ Faserverbindung zu den Thalamuskernen (Abb. 1). Erstere verläuft über den Globus pallidus internus und die Pars reticulata der Substantia nigra, ist inhibitorisch und enthält GABA und Substanz P als Neurotransmitter (Graybiel & Ragsdale, 1983). Der Globus pallidus

internus wirkt seinerseits hemmend auf den Thalamus, so dass die thalamischen Neuronen auf diesem „direkten“ Weg eine Disinhibition erfahren. Der Thalamus sendet exzitatorische Efferenzen zurück zum Neokortex; mithin bewirkt die Disinhibition der thalamischen eine verstärkte Erregung der kortikalen Neurone.

Die „indirekte“ Faserverbindung verläuft vom Striatum über den Globus pallidus externus zum Nuc. subthalamicus und von diesem zum Globus pallidus internus. Dabei sind die Projektionen von Striatum zu Globus pallidus externus und von diesem zu Nuc. subthalamicus inhibitorisch. Als Neurotransmitter wirkt GABA, die in den striatopallidalen Neuronen mit Enkephalin kolokalisiert ist (Graybiel & Ragsdale, 1983). Vom Nuc. subthalamicus wiederum verlaufen exzitatorische GABAerge Projektionen zu Pars reticulata der Substantia nigra und Globus pallidus internus, der seinerseits inhibierend auf den Thalamus wirkt. Damit übt die Aktivierung der striatopallidalen Neuronen eine unterdrückende Wirkung auf die Aktivität des Globus pallidus externus aus, der seinerseits den Nuc. subthalamicus disinhibiert und auf diese Weise den exzitatorischen Einfluss aus Substantia nigra und Globus pallidus internus erhöht. Hieraus resultiert eine erhöhte Inhibition des Thalamus, was eine verminderte Erregung der kortikalen Neurone bewirkt. Mithin üben „direkte“ und „indirekte“ Faserverbindung eine entgegengesetzte Wirkung auf den Globus pallidus internus und die Pars reticulata der Substantia nigra und damit auf die thalamokortikalen Efferenzen aus.

Die Ursprungszellen des DAergen System wurden im Jahre 1964 von Dahlström und Fuxe identifiziert; es besteht im Wesentlichen aus drei Faserverbindungen: die nigrostriatalen Bahnen nehmen ihren Anfang in der Substantia nigra und projizieren zum Striatum (Dahlström & Fuxe, 1964), die mesolimbischen/mesokortikalen Bahnen entspringen in der ventralen tegmentalen Area und entsenden Efferenzen zum Kortex, und die tubulär-infundibulären Bahnen entstammen dem Hypothalamus und projizieren zur Hypophyse. Die funktionelle Bedeutung von DA innerhalb der Basalganglien ist komplexer Natur und bis heute nicht in allen Einzelheiten geklärt. Es wird angenommen, dass die nigrostriatalen DAergen Projektionen entgegengesetzte Einflüsse auf die „direkten“ und „indirekten“ striatopallidalen Faserverbindungen ausüben. Dabei scheint DA von allgemeinen exzitatorischer Wirkung auf die striatalen Neurone zu sein, die „direkte“ GABA/Substanz P-erge Projektionen zu Globus pallidus internus und Pars reticulata der Substantia nigra entsenden, während es die striatalen Neurone inhibiert, die auf dem „indirekten“ Weg GABA/enkephalinerg zum Globus pallidus externus projizieren (Hirata et al.,

1984, Hirata & Mogenson, 1984, Hong et al., 1985, Pan et al., 1985, Young et al., 1986, Bouras et al., 1986). Damit besteht die Wirkung von DA darin, die vom Neokortex ausgehende Aktivierung des striato-thalamo-kortikalen Kreislaufts zu verstärken, indem es sowohl die Neurotransmission über die exzitatorisch wirkende „direkte“ als auch über die inhibitorisch wirkende „indirekte“ Faserverbindung faszilitiert. Diese entgegengesetzten Effekte werden über unterschiedliche Rezeptorsubtypen mediiert; von diesen wird in Kapitel 1.1.3.1. die Rede sein.

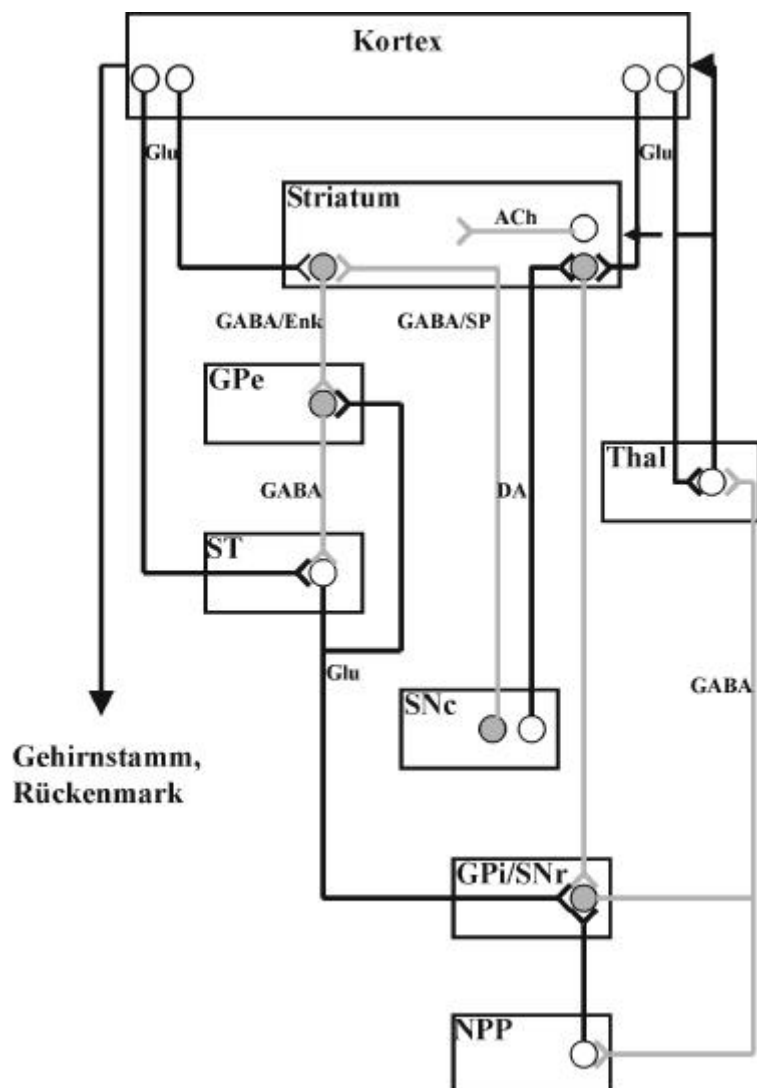


Abb. 1. Der kortiko-striato-thalamo-kortikale Schaltkreis (modifiziert nach DeLong et al., 1991). *Schwarz*, exzitatorisch, *grau*, inhibitorisch. *ACh*, Azetylcholin, *DA*, Dopamin, *Enk*, Enkephalin, *GABA*, γ -Aminobuttersäure, *Glu*, Glutamat, *GPe*, Globus pallidus externus, *GPi*, Globus pallidus internus, *NPP*, Nuc. pedunculopontinus, *SNc*, Substantia nigra compacta, *SNr*, Substantia nigra reticulata, *SP*, Substanz P, *ST*, Subthalamus, *Thal*, Thalamus

Die Interaktionen zwischen den Neurotransmittern DA, GLU und GABA sind vielfältiger Art. Die DAerge Neurotransmission wird von GLUergen kortikostriatalen Projektionen stimuliert (Walaas & Fonnum, 1979). Dies erhellt aus der Tatsache, dass GLU die Freisetzung von DA aus striatalem Gewebe erhöht (Nieoullon et al., 1983). Entsprechend führt die Verabreichung von GLU-Antagonisten zu einer verringerten DA-Freisetzung (Wu et al., 2000). Weitere Befunde zeigen, dass aus kortikostriatalen Terminalen freigesetztes GLU die Freisetzung von DA durch präsynaptische Mechanismen faszilitiert, die durch Aktivierung von N-Methyl-D-Aspartat(NMDA)- oder Quisqualat-/Kainatrezeptoren mediiert werden (Chéramy et al., 1986, Krebs et al., 1989). Hierbei ist die Wirkung von NMDA in der striatalen Matrix ausgeprägter als in den Patch-Kompartimenten (Krebs et al., 1989). Verschiedene Studien legen auch intrazelluläre Rezeptor-Rezeptor-Interaktionen auf postsynaptischer Ebene nahe: so vermindert beispielsweise eine DAerge Rezeptoraktivierung die striatale Freisetzung von GLU (Nieoullon et al., 1983), während umgekehrt eine selektive Zerstörung der DAergen Neurone in einer Zunahme der NMDA-Bindungsstellen resultiert (Samuel et al., 1990). Ebenso zeitigt die synaptische Aktivierung von NMDA-Rezeptoren eine Abnahme der synaptischen Wirkung von DA (Girault et al., 1990). Aus diesen zellulären Interaktionen erhellt, dass jede auf Fehlfunktion oder Läsion der striatalen DAergen Afferenzen zurückzuführende Verminderung der DAergen Neurotransmission eine Faszilitierung der synaptischen Wirkung von GLU nach sich zieht, die ihrerseits wiederum die Reduktion der DAergen Neurotransmission verstärkt.

Auch die Beziehungen zwischen den nigrostriatalen DAergen und den striatalen GABAergen Neuronen sind überaus komplexer Natur. Auf striataler Ebene faszilitiert GABA die DA-Freisetzung (Giorguieff et al., 1978), während GABA auf nigraler Ebene über die Aktivierung striataler GABAerger Output-Neurone eine direkte inhibitorische Wirkung auf die DA-Zellkörper ausübt; gleichzeitig hemmt GABA die in der Pars reticulata lokalisierten inhibitorischen Systeme und ist infolgedessen auch von indirekt exzitatorischen Einfluß auf die nigralen DAergen Neuronen (Grace & Bunney, 1979). Die neuronale Aktivität der GABAergen Nervenfasern steht unter direkter inhibitorischer Kontrolle der DAergen Neurone, wie aus der Tatsache hervorgeht, dass eine Unterbrechung der nigrostriatalen DAergen Neurotransmission einen Anstieg der striatalen GABAergen Aktivität zur Folge hat (Samuel et al., 1988). Weitere Untersuchungen ergaben, daß die Stimulierung des D₁-Rezeptors im dorsalen Striatum die GABA-Freisetzung erhöht, während die Stimulierung des D₂-Rezeptors die GABA-Freisetzung

vermindert (Girault et al., 1986); demgegenüber zeitigt die Aktivierung des D₁-Rezeptors im ventralen Striatum eine Verminderung der GABA-Freisetzung, während die Aktivierung des D₂-Rezeptors keinerlei Wirkung auf die Transmitterfreisetzung ausübt (Besson et al., 1987).

Im Neostriatum wurden nicht nur die höchsten zentralnervösen DA- (Carlsson, 1959), sondern auch die höchsten Azetylcholin (ACh) - und Cholinacetyltransferasekonzentrationen (Cheney et al., 1975) gemessen. Die Existenz einer funktionalen Verbindung zwischen cholinergem und DAergem System ist hinreichend bekannt: so fanden Giorguieff und Le Floch, daß ACh die striatale DA-Freisetzung über die Aktivierung muskarinischer und nikotinischer Rezeptoren fasziliert, die präsynaptisch auf den DAergen Nervenendigungen lokalisiert sind (Giorguieff & Le Floch, 1990). Andererseits hemmt DA über den D₁-Rezeptor die Aktivität cholinergischer Interneurone und vermindert ACh-Metabolismus und neostriatale ACh-Freisetzung (Lehmann & Langer, 1983, Consolo et al., 1987). Auch zwischen ACh und dem GLUergen System besteht eine enge funktionale Verbindung: so zeigten Scatton und Lehmann, daß die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren die striatale ACh-Freisetzung erhöht (Scatton & Lehmann, 1982). Umgekehrt vermag ACh die kortikostriatale GLUerge Transmission über präsynaptische Mechanismen zu hemmen, die die Aktivierung muskarinischer wie auch nikotinischer Rezeptoren involvieren (Kerkerian & Nieoullon, 1983). Ebenso ist GLU an der DAergen Kontrolle der striatalen cholinergen Aktivität beteiligt (Kerkerian-Le Goff & Nieoullon, 1991): so könnte der Anstieg des ACh-Metabolismus‘ nach Zerstörung der nigrostriatalen DA-haltigen Faserverbindungen mit der hieraus folgenden Hyperaktivität des GLUergen Systems in Zusammenhang stehen. Entsprechend wurde in einer kürzlich veröffentlichten Arbeit bei Ratten mit zerstörten nigrostriatalen Faserverbindungen eine Reduktion der akinetischen Symptome nach chronischer Behandlung mit dem Antagonisten des metabotropen GLU-5-Rezeptors (mGLUR-5) 2-Methyl-6-(phenylethyl-1-yl)-pyridin beschrieben (Oueslati et al., 2005). Ein gleichermaßen enger Zusammenhang besteht zwischen ACh und dem GABAergen System, das einen inhibitorischen Einfluß auf die striatalen cholinergen Neurone ausübt, während ACh seinerseits die striatale GABA-Freisetzung fasziliert (Scatton, 1987).

Die afferenten Faserverbindungen vom dorsalen Raphekern zu Putamen und Nuc. caudatus enthalten einen serotonin(5-hydroxytryptamin-, 5-HT-)ergen Anteil, der etwa ein Viertel der gesamten Projektion ausmacht (Dahlström & Fuxe, 1964). Die striatalen 5-HT-Konzentrationen sind mäßig (Bogdansky et al., 1957); ähnliches gilt für 5-HT-Wiederaufnahme

und Tryptophanhydroxylasegehalt (Bogdansky et al., 1957), während die 5-HT-Rezeptoren überaus zahlreich sind (Enna et al., 1977). Über die Funktion von 5-HT in Substantia nigra und Striatum ist bislang wenig bekannt, doch kann eine inhibitorische Wirkung von 5-HT angenommen werden, da eine 5-HTerge Denervierung das Striatum wenigstens teilweise vor kaininsäureinduzierter Zerstörung zu schützen vermag (Berger et al., 1982). Neuere Befunde zeigen eine synergistische Wirkung von DA und 5-HT: so induzierte die kombinierte Verabreichung von D₁- und 5-HT₂-Rezeptoragonisten bei Ratten mit DA-Depletion eine gesteigerte Expression von Preprotachykinin-mRNA im dorsomedialen Striatum (Campbell et al., 2001). Preprotachykinine wiederum sind Vorläufermoleküle der Neuropeptiden, zu denen Substanz P gehört; dessen neuroprotektive Effekte bei nigrostriataler Denervierung wurden in mehreren Untersuchungen nachgewiesen (Mattioli et al., 1992, Nikolaus et al., 1997, 1999). 5-HT ist ferner von regulatorischer Wirkung auf die Aktivität der cholinergen Neurone: so fanden Hirano und Mitarbeiter, dass die systemische Gabe von Fenfluramin, das die Freisetzung von 5-HT fasziliert, die ACh-Ausschüttung im frontalen Kortex um bis zu 130 % zu erhöhen vermag; der 5-HT₂-Rezeptorantagonist Ketanserin indessen zeitigt ebenso wie der selektive 5-HT-Wiederaufnahmehemmer Fluoxetin, der den Eintritt von Fenfluramin in die 5-HTergen Nerven terminale unterbindet, einen inhibitorischen Effekt auf die 5-HT-induzierte ACh-Freisetzung (Hirano et al., 1995).

Etwa 20 bis 25 % der aus der premammillären und posterioren hypothalamischen Region hervorgehenden histaminergen Innervation führt zum Caudatoputamen (Steinbusch et al., 1986). Das DAerge System fasziliert die Histaminausschüttung über die D₂-Rezeptoren, während die D₃-Rezeptoren inhibitorische Einflüsse auf die histaminerge Aktivität ausüben (Prast et al., 1993). Beide DA-Rezeptorsubtypen können präsynaptisch auf den 5-HT-Neuronen lokalisiert sein. Umgekehrt erhöht Histamin die DA-Freisetzung im posterioren Hypothalamus (Fleckenstein et al., 1994), während durch zentrale Verabreichung die Aktivität mesolimbischer, jedoch nicht nigrostriataler DAerger Neurone gesteigert zu werden vermag (Fleckenstein et al., 1993). Für die Maus konnte zudem ein über den H₃-Rezeptor mediierter inhibitorischer Effekt auf die striatale DA-Ausschüttung nachgewiesen werden (Schlicker et al., 1993); indessen beruht die vorerwähnte exzitatorische Wirkung auf H₁-Rezeptormechanismen (Fleckenstein et al., 1993).

Der DA D₂-Rezeptor und der Dopamintransporter (DAT) stehen im Mittelpunkt der in Kapitel 2 dargestellten Untersuchungen. Wir wenden uns daher im Folgenden der DAergen

Synapse zu.

1.1.3. Die dopaminerge Synapse

1.1.3.1. Der Dopaminmetabolismus

DA entsteht im präsynaptischen Neuron aus der Aminosäure Tyrosin, die von der Tyrosinhydroxylase (TH) zu Dihydroxyphenylalanin (DOPA) hydroxyliert wird (Nagatsu et al., 1964). Die TH ist im Zytosol lokalisiert und benötigt reduzierte Tetrahydropteridine, zweiwertiges Eisen und Sauerstoff als Kofaktoren. Durch die DOPA-Decarboxylase wird Dihydroxyphenylalanin zu Dihydroxyphenylamin (DA) decarboxyliert (Murphy & Sourkes, 1961). Nach dem aktiven Transport in die postganglionären Neurone beziehungsweise in die chromaffinen Granula des Nebennierenmarks wird DA durch die DA- β -Hydroxylase zu Noradrenalin (NA) umgesetzt (Nagatsu et al., 1964). Mit Hilfe der Phenyläthanolamin-N-Methyltransferase schließlich erfolgt die N-Methylierung von NA zu Adrenalin, wobei die Methylgruppe von S-Adenosylmethionin zur Verfügung gestellt wird (Engelhardt et al., 1954).

Der Abbau der zirkulierenden Katecholamine Adrenalin und NA (s. Übersichtsarbeit von Blaschko et al., 1954) beginnt mit der O-Methylierung derselben zu 3-Methoxyadrenalin und 3-Methoxynoradrenalin durch die Catechol-O-Methyltransferase (COMT). Durch die Monoaminoxidase (MAO) werden beide Verbindungen zu 3-Methoxy-4-hydroxymandelsäurealdehyd desaminiert, das seinerseits zu 3-Methoxy-4-hydroxymandelsäure oxidiert wird. In den katecholaminergen Nervenendigungen erfolgt stattdessen die Umsetzung zu 3,4-Dihydroxymandelsäurealdehyd, der nach der Oxidierung zu 3,4-Dihydroxymandelsäure durch die COMT zu Vanillinmandelsäure umgebaut wird. DA wird durch die MAO zu Dihydroxyphenylelessigsäure (DOPAC) oder durch die COMT zu 3-Methoxytyramin (3-MT) metabolisiert (s. Übersichtsarbeit von Hornykiewicz, 1985). Dieses wiederum wird durch die extrazelluläre MAO zu Homovanillinsäure (HVA) umgesetzt.

DA wird durch vesikuläre Neurotransmittertransporter (VNTs) in die präsynaptischen Speichervesikel aufgenommen (Abb. 2). Nach Freisetzung in den synaptischen Spalt aktiviert DA

prä- oder postsynaptisch lokalisierte Rezeptoren (D₁ bis D₅). Die Entfernung aus dem synaptischen Spalt erfolgt durch plasmamembrangebundene Neurotransmittertransporter (PNTs), die die Aufnahme in präsynaptische Neuronen, postsynaptische Neuronen oder Gliazellen medieren.

1.1.3.2. Die Dopaminrezeptoren

1.1.3.2.1. Klassifizierung

Im Jahre 1972 zeigten erst biochemische Studien, dass DA die Adenylatzyklase (AZ) zu stimulieren vermag (s. Übersichtsarbeit von Kebabian & Calne, 1979). Einige Jahre später wurde

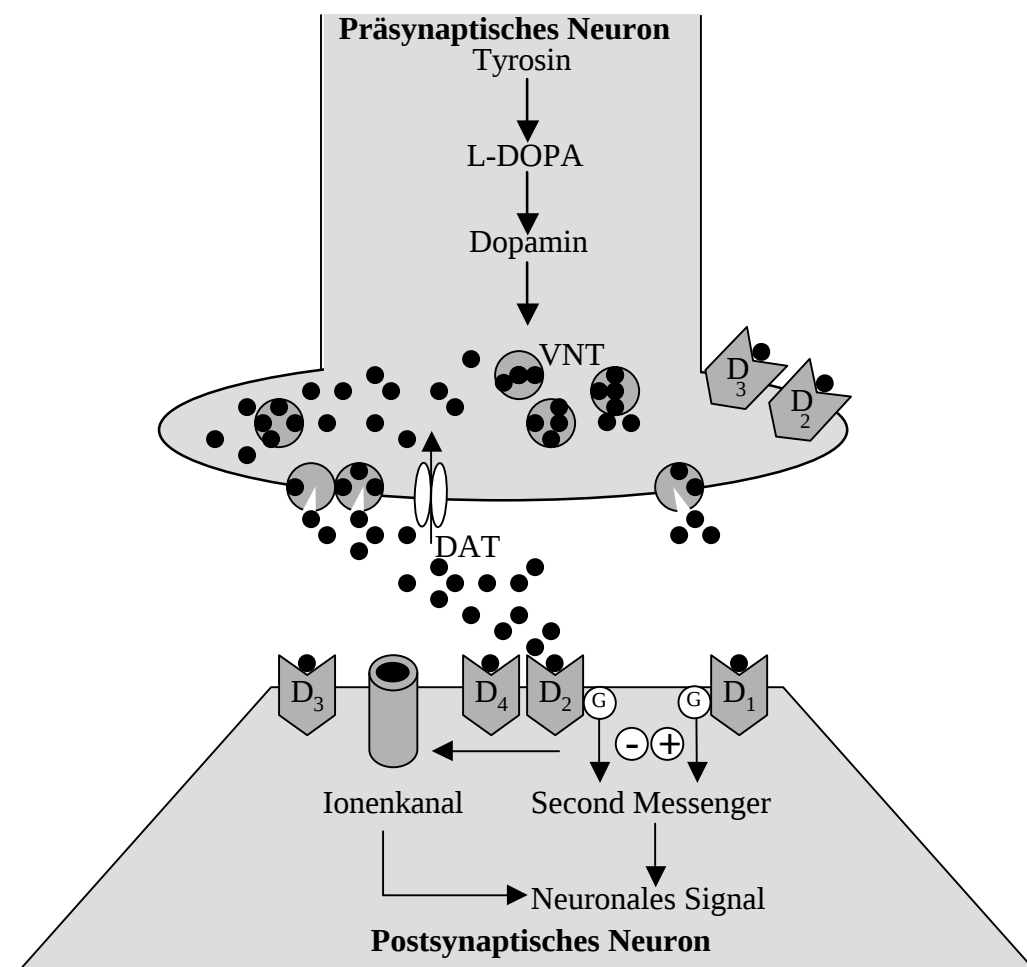


Abb. 2. Die DAerge Synapse. DAT, Dopamintransporter; G, G-Protein; VNT, Vesikuläre Neurotransmitter-Transporter

die Existenz zweier Rezeptorsubtypen postuliert. Dem lag die Annahme zugrunde, dass der eine die AZ stimuliert, während der andere vom cyclo-Adenosin-3',5'-Monophosphat(cAMP)-System unabhängig ist (Spano et al., 1978). Kebabian und Calne schlugen vor, diese Subtypen als D₁- und D₂-Rezeptor zu bezeichnen (Kebabian & Calne, 1979). Die Anwendung von Homologie-Klontechniken führte Ende der achtziger Jahre zur Identifikation weiterer Rezeptorsubtypen (D₃, D₄, D₅), wobei die D₅-Rezeptoren große strukturelle und pharmakologische Ähnlichkeiten mit dem D₁-Rezeptor aufweisen, während die D₃- und D₄-Rezeptoren der Familie der D₂-Rezeptoren zugeordnet werden können. Der humane D₅-Rezeptorsubtyp entspricht dabei dem D_{1B}-Rezeptor der Ratte, der bei dieser Spezies zusammen mit dem D_{1A}-Subtyp die D₁-Rezeptorfamilie bildet (s. Übersichtsarbeit von Emilien et al., 1999). Die ursprüngliche Unterteilung in D₁- und D₂-Rezeptoren je nach Art der Kopplung an die AZ kann dabei auch auf die neuen Mitglieder der DA-Rezeptorfamilie angewendet werden; die D₁-ähnlichen Rezeptoren D₅ und D_{1B} stimulieren die AZ (Dearry et al., 1990, Sunahara et al., 1991), während für die D₂-ähnlichen Rezeptoren D₃ und D₄ eine Inhibierung der cAMP-Bildung nachgewiesen wurde (McAllister et al., 1995).

1.1.3.3.2. Struktur

Die DA-Rezeptoren gehören der G-Protein-gekoppelten Rezeptorfamilie an. Sie weisen sieben Transmembrandomänen auf, die für die Bindung von DA entscheidend sind (s. Übersichtsarbeit von Missale et al., 1998). Beide Subtypen besitzen drei extra- und zwei intrazelluläre Schleifen sowie einen extrazellulären Amino(NH₂)- und einen intrazellulären Carboxyl(COOH)-Terminus. Der COOH-Terminus ist reich an Serin und Threonin und enthält überdies einen Cysteinrest, der den zytoplasmatischen Schwanz mit der Membran verankert. Dabei ist der Cysteinrest bei den D₁-ähnlichen Rezeptoren am Anfang des COOH-Terminus lokalisiert, während er sich bei den D₂-ähnlichen Rezeptoren an dessen Ende befindet. Überdies weisen sowohl D₁- als auch D₂-ähnliche Rezeptoren zwei weitere Cysteinreste in den extrazellulären Schleifen 2 und 3 auf, zwischen denen sich eine die Rezeptorstruktur stabilisierende Disulfidbrücke ausbildet. D₁- und D₂-ähnliche Rezeptoren zeigen große Ähnlichkeiten in den Aminosäuresequenzen der Transmembrandomänen (s. Übersichtsarbeit von Probst et al., 1992). Die D₂-ähnlichen Rezeptoren sind durch einen kurzen COOH-Terminus und eine große extrazelluläre Schleife 3 gekennzeichnet, wie sie für Rezeptoren charakteristisch ist, die mit dem inhibitorischen G_i-Protein interagieren. Im Gegensatz hierzu ist bei den D₁-

ähnlichen Rezeptoren wie bei vielen Rezeptoren, die mit dem stimulierend wirkenden G_s -Protein interagieren, die dritte Schleife verkleinert (s. Übersichtsarbeit von Gingrich & Caron, 1993). Phosphorylierung kann am COOH-Terminus und an der intrazellulären Schleife 3 erfolgen, während sich Glycosylierungsstellen am NH_2 -Terminus und an der extrazellulären Schleife 2 befinden (s. Übersichtsarbeit von Gingrich & Caron, 1993).

1.1.3.2.3. Signaltransduktion

Bei der Informationsweiterleitung über cAMP wird zunächst durch die Bindung von DA die Konformation des Rezeptors dergestalt verändert, dass er auf der Membraninnenseite ein nukleotidbindendes G-Protein zu binden vermag. Das G-Protein wird über Guanosindi(GDP)-Guanosintriphosphat(GTP)-Austausch aktiviert und stimuliert seinerseits die AZ über die Hydrolyse von GTP zu GDP und einem Phosphatrest. Die AZ wiederum katalysiert die Synthese von cAMP, das die Proteinkinase A (PKA) aktiviert, die ihrerseits durch Phosphorylierung die Aktivitäten einer Vielzahl von Enzymen und Regulatorproteinen zu verändern vermag.

Auch bei der Signaltransduktion über Inositoltriphosphat (IP_3) erfolgt zuerst die Aktivierung eines G-Proteins. Dieses aktiviert die Phospholipase C, die das Membranprotein Phosphatidylinositol in IP_3 und Diacylglycerol spaltet. IP_3 stimuliert die Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen aus dem endoplasmatischen Reticulum. Diese wiederum aktivieren Ca^{2+} -bindende Proteine - darunter Proteinkinasen - die die Aktivitäten von Enzymen und Regulatorproteinen verändern. Diacylglycerol aktiviert die Proteinkinase C (PKC) und dient ferner als Substrat für die Phospholipase A2, die Arachidonsäure - die Ausgangssubstanz für die Synthese von Prostaglandinen - von Phospholipiden abspaltet.

Wie zuvor erwähnt, wurde bereits in den siebziger Jahren gezeigt, dass DA die Aktivität der AZ zu beeinflussen vermag (s. Übersichtsarbeit von Keibian & Clane, 1979). Die Existenz einer D_1 -rezeptorstimulierten AZ wurde für die meisten Gehirnregionen nachgewiesen (Memo et al., 1986); ebenso konnte in etlichen Zellkulturlinien nachgewiesen werden, dass der D_1 -Rezeptor die cAMP-Akkumulation zu stimulieren vermag (Deary et al., 1990, Monsma et al., 1990, Zhou et al., 1990). Wie bei der großen strukturellen Ähnlichkeit zu erwarten, weist auch der D_5 -Rezeptor eine positive Kopplung an die AZ auf (Sunahara et al., 1991). Gemeinhin wird angenommen, dass die Stimulierung der AZ durch die D_1 -ähnlichen Rezeptoren über die G_{sa} -Untereinheit des G-Proteins erfolgt. Herve und Mitarbeiter wiesen jedoch nach, dass die $G_{olf\alpha}$ -

Untereinheit in Regionen wie Nuc. caudatus, Nuc. accumbens und Tuberculum olfactorium stärker als die G_{sa}-Untereinheit ausgeprägt ist (Herve et al., 1993). Dies impliziert, dass die Kopplung der D₁-ähnlichen Rezeptoren an die AZ durch bislang unbekannte Mechanismen erfolgen kann. So zeigten weitere Studien, dass striatale D₁-Rezeptoren auch mit den inhibierenden G_{ia}- (Sidhu et al., 1991) und G_{ia}/G_{oa}-Proteinen (Kimura et al., 1995) assoziiert sein können. Darüberhinaus ergaben Immunoprecipitationsstudien eine Interaktion des D₁-Rezeptors mit dem G_q-Protein, das die Signaltransduktion über IP₃ mediert (Wang et al., 1995).

In den frühen achtziger Jahren wurde gezeigt, dass der D₂-Rezeptor die AZ zu inhibieren vermag (Olani et al., 1985). Dies gilt für beide Isoformen D_{2S} und D_{2L}. Verschiedene Untersuchungen ergaben, dass die Signaltransduktion über G_{ia}-Untereinheiten erfolgt (Montmayeur et al., 1993, Senogles et al., 1994, Guiramano et al., 1995).

Ursprünglich konnte keine inhibierende Wirkung des D₃-Rezeptors auf die AZ nachgewiesen werden (Sokoloff et al., 1990). Dabei schien der Mangel an Guanosinnukleotiden nach Challenge mit Agonisten nahe zu legen, dass grundsätzlich keine Interaktion des D₃-Rezeptors mit G-Proteinen erfolgen könne (Sokoloff et al., 1990). Inzwischen wurde jedoch gezeigt, dass der D₃-Rezeptor die AZ in manchen Zelllinien schwach zu inhibieren vermag (Chio et al., 1994, Potenza et al., 1994, McAllister et al., 1995, Robinson et al., 1996). Nachdem für die Retina (Cohen et al., 1992) und verschiedene Zelllinien (Memo et al., 1986, Tang et al., 1994, Chio et al., 1994, McAllister et al., 1995) auch eine hemmende Wirkung des D₄-Rezeptors auf die AZ nachgewiesen wurde, scheint fest zu stehen, dass die Unterdrückung der cAMP-Bildung eine allgemeine Eigenschaft der D₂-ähnlichen Rezeptoren darstellt.

Sowohl die D₁- als auch die D₂-ähnlichen Rezeptoren erhöhen die intrazellulären Ca²⁺-Konzentration über die Stimulierung der Phosphatidylinositol-Hydrolyse (Undie et al., 1990, Vallar et al., 1990). Für den D₁-Rezeptor konnte überdies eine Erhöhung der Ca²⁺-Freisetzung durch cAMP-Analoga sowie eine Blockade durch PKA-Inhibitoren nachgewiesen werden (Surmeier et al., 1995). Die D₂-ähnlichen Rezeptoren - insonderheit D₃ und D₄ - modulieren außerdem die Abnahme der intrazellulären Ca²⁺-Konzentrationen mittels Inhibition der einwärts gerichteten Ca²⁺-Ströme; dies erfolgt zum einen durch die direkte Blockierung von Ca²⁺-Kanälen über Aktivierung von G-Proteinen und zum anderen durch die rezeptormediierte Aktivierung von K⁺-Strömen, die ihrerseits zu Veränderungen des Membranpotentials führen (s. Übersichtsarbeit

von Valentijn et al., 1993).

D₂-ähnliche Rezeptoren potenzieren ferner die Ca²⁺-induzierte Freisetzung von Arachidonsäure (Felder et al., 1990). Die Blockierung dieses Effektes durch Applikation von PKC-Inhibitoren wie Staurosporin (Felder et al., 1990) oder durch Herunterregulation dieses Enzyms mittels Phorbol-12-myristat-13-acetat (Kantermann et al., 1991) legen nahe, dass die Wirkung des D₂-Rezeptorsubtyps über die Veränderung der PKC-Aktivität mediiert wird.

Die Wirkung von D₁-ähnlichen Rezeptoren auf die K⁺-Ströme wird kontrovers diskutiert (s. Übersichtsarbeit von Missale et al., 1998). Bislang wurden sowohl D₁-induzierte Erhöhungen (Laitinen et al., 1993) als auch Erniedrigungen (Kitai et al., 1993) des K⁺-Ausstroms berichtet. Die Rolle der D₂-ähnlichen Rezeptoren bei der Modulierung der K⁺-Ströme ist besser untersucht, wobei in Striatum, Mesenzephalon und Hypophyse der Ratte eine D₂-rezeptormediierte Zunahme der extrazellulären K⁺-Konzentrationen nachgewiesen wurde (Williams et al., 1989, Kitai et al., 1993, Liu et al., 1994, Greif et al., 1995). Die solcherart induzierte Hyperpolarisierung der Zellmembran wird über einen G-Protein-Mechanismus mediiert. Ihre funktionelle Bedeutung liegt in der Inhibierung der DA-Freisetzung durch Autorezeptoren. Ebenso erfolgt auf diese Weise die Hemmung der hypophysären Prolaktinsekretion.

D₁-Rezeptor-Agonisten verursachen über cAMP-abhängige wie auch -unabhängige Mechanismen eine Inhibierung des Na⁺/H⁺-Austauschers (Felder et al., 1990, 1993), der für die Regulation des intrazellulären pH-Wertes und des Zellvolumens verantwortlich ist. Im Gegensatz hierzu wird der Na⁺/H⁺-Austauscher in vielen Zellen durch den D₂-Rezeptor aktiviert (Ganz et al., 1990, Neve et al., 1992, Felder et al., 1993). Dabei wird eine Medierung dieser Effekte durch die G_{ia}-Untereinheit diskutiert (Dhanasekaran et al., 1994).

Die Na⁺/K⁺-ATPase pumpt Na⁺-Ionen aus der Zelle heraus und K⁺-Ionen in die Zelle hinein und ist mithin für die Aufrechterhaltung des elektrochemischen Gradienten und die Erregbarkeit von Nerven- und Muskelzellen unabdingbar. Bertorello und Mitarbeiter fanden in einer Untersuchung striataler Neurone, dass die Inhibierung der Na⁺/K⁺-ATPase entweder die Anwesenheit von DA oder eine Kombination von D₁- und D₂-Agonisten erfordert (Bertorello et al., 1990). In anderen Geweben wie etwa der Retina oder der Niere scheint die Inhibierung der Na⁺/K⁺-ATPase ausschließlich über den D₁-Rezeptor zu erfolgen (Laitinen et al., 1993, Chen et al., 1993). Es wird eine Medierung dieses Effektes durch die PKA oder das synergistische Zusammenwirken von PKC und PKA diskutiert (Horiuchi et al., 1993).

1.1.3.2.4. Verteilung

Der D₁-Rezeptor ist von allen DA-Rezeptoren am weitesten verbreitet und in höheren Konzentrationen als jeder anderer DA-Rezeptor exprimiert (Dearry et al., 1990). D₁-mRNA und -Rezeptorprotein wurde in Striatum, Nuc. accumbens und Tuberculum olfactorium identifiziert. In niedrigeren Konzentrationen wurde der D₁-Rezeptor überdies in Frontal- und Temporalkortex, sowie in limbischem System, Hypothalamus und Thalamus nachgewiesen (Hall et al., 1994, Meador-Woodruff et al., 1996). D₁-Rezeptoren in Nuc. entopeduncularis und Pars reticulata der Substantia nigra sind vornehmlich auf GABAergen striatalen Efferenzen lokalisiert, die überdies Substanz P koexprimieren (Gerfen et al., 1990). Läsionsstudien mit 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) führten zu keiner Reduktion der D₁-Rezeptordichte in Substantia nigra und Striatum; dies legt nahe, dass die D₁- anders als die D₂-Rezeptoren - in der Substantia nigra prä-, und im Caudatoputamen postsynaptisch lokalisiert sind (Joyce & Marshall, 1987).

Die D₂-Rezeptoren treten ebenfalls in größter Häufung im Neostriatum auf (Hall et al., 1994). Ferner finden sich D₂-Rezeptoren in Substantia nigra, ventraler tegmentaler Area, Nuc. accumbens, Bulbus olfactorius und Neokortex, wobei die Häufigkeit in kortikalen Geweben von okzipital nach frontal zunimmt (Lidow et al., 1989). Im Gegensatz zum D₁- konnte der D₂-Rezeptor auch im Hypothalamus nachgewiesen werden (Autelitano et al., 1989). Die Splice-Varianten des D₂-Rezeptors - D_{2S} und D_{2L} - unterscheiden sich in ihrer Verteilung und üben unterschiedliche Funktionen aus. Der D_{2S}-Rezeptor tritt vornehmlich auf Perikarya und efferenten Axonen der DAergen Zellgruppen in Mesenzephalon und Hypothalamus in Erscheinung, während der D_{2L}-Rezeptor stärker auf den Neuronen des dorsalen und ventralen Striatums exprimiert ist (Khan et al., 1998). Dabei tritt die D_{2L}-Variante zum größten Teil auf mittelgroßen GABAergen und großen cholinergen Neuronen in Erscheinung.

Der Begriff „Autorezeptor“ wurde im Jahre 1975 von Carlsson geprägt (Carlsson, 1975). Die DA-Autorezeptoren gehören zur Familie der D₂-ähnlichen Rezeptoren und werden von Soma und Dendriten nigraler und ventraler tegmentaler Neurone sowie von den Axonterminalen in Neostriatum und Nuc. accumbens exprimiert (Sesack et al., 1994). Wie die Befunde von Khan und Mitarbeitern zeigten, wird die präsynaptische Autorezeptorfunktion von der D_{2L}-, die postsynaptische hingegen von der D_{2S}-Splice-Variante wahrgenommen (Khan et al., 1998).

D₃-Rezeptoren sind überwiegend im Nuc. accumbens, aber auch im Okzipitalkortex und im Kleinhirn lokalisiert (Suzuki et al., 1998), während sich D₄- und D₅-Rezeptoren vornehmlich

in Thalamus und Hippokampus befinden (Meador-Woodruff et al., 1992, Primus et al., 1997); überdies wurden D₄-Rezeptoren in Hypothalamus und Frontalkortex des menschlichen wie Rattengehirns nachgewiesen (Primus et al., 1997). Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass auch D₃- und D₄-Rezeptoren eine Autorezeptorfunktion wahrnehmen, doch sind diese Befunde nicht konsistent (s. Übersichtsarbeit von Schmitz et al., 2003).

1.1.3.3. Der Dopamintransporter

Der Dopamintransporter (DAT) gehört zur Familie der Na⁺/Cl⁻-abhängigen PNTs (Giros et al., 1991, Kilty et al., 1991, Shimada et al., 1991). Weitere Mitglieder dieser Familie sind der 5-HT- (SERT), der GABA- [GAT(1-3)] und der NA-Transporter (NET) sowie die Transporter für die Aminosäuren Prolin (PROT), Taurin (TAURT oder rB16a) und Glycin [GLYT(-1a, -b, -c und -2), s. Übersichtsarbeit von Masson et al., 1991]. Die Na⁺/Cl⁻-abhängigen PNTs weisen zwölf Abschnitte auf, die aus 15 bis 25 hydrophoben Aminosäuren bestehen. Einem ersten Modell zufolge bilden sie zwölf α -helikale Transmembrandomänen (TM1-12; Kyte & Doolittle, 1982). Sowohl NH₂- als auch COOH-Terminus befinden sich intrazellulär; die zweite extrazelluläre Schleife enthält zwei bis vier potentielle N-Glycosylierungsstellen. Neuere Befunde haben jedoch für GAT1 und GLYT1 gezeigt, dass die stark hydrophobe TM1 nicht immer die Membran durchspannt, sondern auch eine Schleife bilden kann, die mit der Plasmamembran assoziiert ist („pore loop“-Modell; Bennett & Kanner, 1997, Olivares et al., 1997). Damit wird TM2 zu TM1, die extrazelluläre Schleife 1 wird intrazellulär, und ein hydrophober Anteil der extrazellulären Schleife 2 wird zu TM3. Diese Modifikation könnte nach heutigem Kenntnisstand bei allen Na⁺/Cl⁻-abhängigen PNTs in Erscheinung treten.

Es wird angenommen, dass der variable COOH-terminale Anteil (TM7 bis TM12) Substraterkennung und Inhibitorbindung mediert, während der hochgradig homologe NH₂-terminale Anteil (TM1 bis TM4) am Na⁺/Cl⁻-Transport beteiligt ist (Zaeska & Erecinska, 1987, Kitayama et al., 1992, Buck & Amara, 1994, Giros et al., 1994). Durch die gleichzeitige Bindung von Na⁺- und Cl⁻-Ionen wird eine Konformationsänderung des Transporters induziert, durch die sowohl beide Ionen als auch DA vom Extra- in den Intrazellulärraum der präsynaptischen Neurone verschoben werden (Gu et al., 1994). Das Vorhandensein von PKC- und PKA-

Phosphorylierungsstellen in den intrazellulären Domänen aller Na^+/Cl^- -abhängigen PNTs legt nahe, dass der DA-Transport durch sekundäre Botenstoffe reguliert wird. So beschrieben Kitayama und Mitarbeiter eine PKC-abhängige Inhibierung der DAT-Aktivität (Kitayama et al., 1994), während umgekehrt gezeigt werden konnte, dass die Wiederaufnahme von DA in hypothalamischen Neuronen durch cAMP-abhängige Phosphorylierung stimuliert wird (Kadowski et al., 1990). Zhang und Reith wiesen zudem nach, dass Arachidonsäure die DA-Wiederaufnahme zu reduzieren vermag (Zhang & Reith, 1996). Möglicherweise wird die DAT-Aktivität auch durch N-Glykosylierung des Transportermoleküls reguliert; so zeigten Lenhard und Mitarbeiter eine Reduktion der DA-Wiederaufnahme durch Inhibierung der N-Glykosylierung mittels N-Tunicamycin (Lenhard et al., 1998).

Der DAT ist auf Perikarya, Axonen, Dendriten und Nervenendigungen lokalisiert (Ciliax et al., 1995). Eine dichte DAT-ähnliche Immunoreaktivität wurde in Striatum, Nuc. accumbens, Tuberculum olfactorium, nigrostriatalem Bündel und lateraler Habenula aufgefunden (Freed et al., 1995). Eine Ausprägung geringeren Grades zeigte sich in der Pars compacta der Substantia nigra sowie in Zingulum und medialem präfrontalem Kortex.

1.1.4. Funktionelle Bedeutung des dopaminergen Systems

1.1.4.1. Dopaminrezeptoren

Die Aktivität des DAergen Systems wird durch die D_2 -Autorezeptoren reguliert. Dies kann über unterschiedliche Mechanismen erfolgen. Zum einen wurde gezeigt, dass die Autorezeptoraktivierung die DA-Freisetzung aus Axonterminalen (Seeman & Lee, 1975) und Somatodendriten (Cragg & Greenfield, 1997) inhibiert. Es wird angenommen, dass dies über eine Modulierung der Ca^{2+} -Kanäle vom N- und P/Q-Typus erfolgt (Phillips & Stamford, 2000), doch liegen auch Hinweise auf eine Beteiligung von 4-aminopyridinsensitiven K^+ -Kanälen vor (Congar et al., 2002). Ein weiterer Mechanismus besteht in der Beeinflussung der DA-Synthese durch Reduktion der TH-Aktivität (Kehr et al., 1972). Wahrscheinlich sind hieran eine

Inhibierung der AZ und eine cAMP-abhängige Veränderung der TH-Phosphorylierung beteiligt (Onali & Olanas et al., 1989, Salah et al., 1989, Lindgren et al., 2001). Ferner ruft die Autorezeptoraktivierung eine Hyperpolarisierung des Membranpotentials hervor, die ihrerseits zu einer Aktivierung der G-Protein-aktivierten, gleichrichtenden K^+ -Einwärtsströme (GIRKs) führen (Lacey et al., 1987); die Folge ist eine Abnahme der Feuerungsrate der DAergen Neurone (Bunney et al., 1973).

Zu den Verhaltensfunktionen, die durch das DAerge System reguliert werden, gehört die motorische Aktivität. So induziert die Läsion des Nuc. accumbens bei der Ratte eine spontane lokomotorische Hypoaktivität (Jones & Robbins, 1992), während eine kortikale DA-Depletion lokomotorische Hyperaktivität hervorruft (Tassin et al., 1978). Die bilaterale Läsion der Substantia nigra führt zu einer Bewegungsverlangsamung, die den bradykinetischen Symptomen bei der Parkinsonschen Krankheit ähnlich ist (Baunez et al., 1995). Rezeptorstudien zeigten, dass der Nuc. accumbens die Vorwärtsbewegung über eine Aktivierung der D_1 -, D_2 - und D_3 -Rezeptoren mediiert. Die Aktivierung der präsynaptischen D_2 -Autorezeptoren vermindert die lokomotorische Aktivität, während eine Erhöhung der lokomotorischen Aktivität nach Aktivierung der postsynaptischen D_2 -Rezeptoren beobachtet wurde (s. Übersichtsarbeit von Jackson & Westlind-Danielsson, 1994). Überdies erzeugt die pharmakologische Blockade der D_2 -Rezeptoren eine Verlängerung der Reaktionszeit bei motorischen Konditionierungsaufgaben, während DA und DA-Agonisten eine entgegengesetzte Wirkung hervorrufen (Weed & Gold, 1998, Smith et al., 2000). Die ausschließliche Aktivierung der D_1 -Rezeptoren hat keine oder eine nur geringe Wirkung auf die lokomotorische Aktivität (s. Übersichtsarbeit von Jackson & Westlind-Danielsson, 1994), doch konnte gezeigt werden, dass eine synergistische Wechselwirkung zwischen D_1 - und D_2 -Rezeptoren für die Vorwärtsbewegung unabdingbar ist; so rufen D_2 -Agonisten nur bei gleichzeitiger Stimulierung der D_1 -Rezeptoren eine maximale Erhöhung der lokomotorischen Aktivität hervor (Breese et al., 1987). Diese Beobachtung wurde durch gezielte Inaktivierung des D_1 -Rezeptorgens bei der Maus bestätigt (Xu et al., 1994a,b). Die vornehmlich postsynaptisch lokalisierten D_3 -Rezeptoren inhibieren die Lokomotion; so verringern D_3 -Agonisten die lokomotorische Aktivität, während D_3 -Antagonisten die lokomotorische Aktivität erhöhen (s. Übersichtsarbeit von Sokoloff & Schwartz, 1995). Die entgegengesetzten Effekte von D_2 - und D_3 -Rezeptoren auf die Lokomotion finden ein neurochemisches Korrelat in ihren gleichfalls entgegengesetzten Effekten auf die Neurotensin-

Genexpression im Nuc. accumbens (Diaz et al., 1994).

Das mesolimbokortikale DAerge System ist an der Mediierung von Belohnung und Verstärkung beteiligt; so konnte gezeigt werden, dass die intrakranielle Selbst-Stimulation bei der Ratte in einer erhöhten DA-Freisetzung im präfrontalen Kortex und Nuc. accumbens resultiert (s. Übersichtsarbeit von Jackson & Westlind-Danielsson, 1994). In pharmakologischen Studien wurde nachgewiesen, dass dieses Verhalten durch sowohl D₁- als auch D₂-Rezeptoren mediiert wird, wobei die Agonisten beider Rezeptoren intrakranielle Selbst-Stimulation faszilitieren, während sie durch deren Antagonisten inhibiert wird (Kornetsky & Esposito, 1981, Franklin & Vaccarino, 1983). Bei der Selbst-Applikation von Drogen wie Kokain und Amphetamin (AMPH) wird der verstärkende Effekt durch den D₂-Rezeptor mediiert, während der D₁-Rezeptor von lediglich unterstützender Wirkung ist (Maldonado et al., 1993, Philips et al., 1994, Self et al., 1996). Mithin ist die Stimulierung des D₁-Rezeptors durch endogenes DA unabdingbar für die Exhibierung D₂-medierten Verhaltens. Die Untersuchung von Self und Mitarbeitern zeigt zudem, dass D₁- und D₂-Rezeptoren, obgleich sie synergistisch wirken, unterschiedliche Aspekte der durch Kokain hervorgerufenen Verstärkung medieren: so wird der Anreiz zu weiterer Selbst-Verabreichung von Kokain durch den D₂-Rezeptor reguliert, während der D₁-Rezeptor das Appetenzverhalten zu reduzieren scheint (Self et al., 1996). Überdies wurde gezeigt, dass die Stimulierung des D₃-Rezeptors die Kokain-Selbstverabreichung bei der Ratte auf eine Weise inhibiert, die auf eine Faszilitierung der verstärkenden Wirkung schließen lässt (Caine & Koob, 1993, Parsons et al., 1996).

Die funktionelle Bedeutung des mesolimbokortikalen DAergen Systems für die Regulierung motivationaler Prozesse ist gut dokumentiert (s. Übersichtsarbeit von Le Moal & Simon, 1991). So induzieren selektive Läsionen der ventralen tegmental Area bei der Ratte nicht nur lokomotorische Hyperaktivität, sondern rufen auch die Unfähigkeit hervor, auf einen externen Stimulus zu fokussieren und das Verhalten veränderten Umgebungsreizen anzupassen. Baunez und Robbins beobachteten die nämlichen Aufmerksamkeitsdefizite bei Ratten mit bilateraler Läsion der Substantia nigra (Baunez & Robbins, 1999). Ferner zeitigen Läsionen der ventralen tegmental Area ebenso wie Läsionen des präfrontalen Kortex', des Hippokampus', der Amygdala, der Habenula und der Septumkerne schwerwiegende Beeinträchtigungen beim Erlernen unterschiedlicher Gedächtnisaufgaben (s. Übersichtsarbeiten von Le Moal & Simon, 1991, Wise et al., 1996). Bei Tieren mit striataler DA-Depletion ruft eine zusätzliche Läsion des

Nuc. subthalamicus verfrühte Reaktionen und Perseverationen bei Reaktionszeitaufgaben hervor (Baunez & Robbins, 1999). Pharmakologische Studien zeigten, dass an der Regulierung von Lernen und Gedächtnis D₁- wie auch D₂-ähnliche Rezeptoren beteiligt sind; so verbessert die Aktivierung sowohl des D₁- als auch des D₂-ähnlichen Rezeptors im Hippokampus der Ratte die Akquisition und Retention verschiedener Aufgaben, die das Arbeitsgedächtnis involvieren (Packard & White, 1991, White & Viaud, 1991, White & Packard, 1993, Levin & Rose, 1995). Das Nämliche wurde für den präfrontalen Kortex nicht-humaner Primaten gezeigt (Sawaguchi & Goldman-Rakic, 1991, 1994, Arnsten et al., 1995). Da der D₁-Rezeptor im Hippokampus wesentlich geringer als der D₅-Rezeptor exprimiert ist, ist es wahrscheinlich, dass die Effekte von D₁-Agonisten auf Lernen und Gedächtnis durch den D₅-Rezeptorsubtyp mediiert werden. Weiterhin sind D₃-Rezeptoren in den Septumkernen und zusammen mit D₄-Rezeptoren in Kortex und limbischen Regionen lokalisiert, was eine Beteiligung dieser Subtypen an der Mediierung der durch D₂-Rezeptoragonisten hervorgerufenen Verhaltenseffekte nahe legt.

1.1.4.2. Dopamintransporter

Die synaptischen DA-Konzentrationen werden einerseits durch die neuronale Aktivität und andererseits durch die DA-Wiederaufnahme bestimmt. DAerge Neurone zeigen zwei Arten von elektrischer Entladung, die beim Nagetier entweder aus einzelnen Aktionspotentialen (Frequenz: < 5 Hz) oder aus Serien von zwei bis sechs Aktionspotentialen (Frequenz: 15-30 Hz) bestehen (Grace & Bunney, 1984a,b) und die Freisetzung von DA induzieren. Während der tonischen neuronalen Aktivität wird das durch ein einzelnes Aktionspotential freigesetzte DA vor Eintreffen des nächsten Signals wieder aus dem synaptischen Spalt entfernt. Im Gegensatz hierzu akkumuliert das freigesetzte DA bei der seriellen Feuerung im Extrazellulärraum (Chergui et al., 1994). Die Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration ist für die Stimulierung sowohl der D₂-Autorezeptoren (Benoit-Marand et al., 2001) als auch der postsynaptischen D₁-Rezeptoren unabdingbar (Chergui et al., 1996). In Knock-out-Mäusen mit fehlendem DAT akkumuliert das bei tonischer Aktivität freigesetzte DA, ohne dass eine weitere Steigerung durch serielle Feuerung möglich wäre (Benoit-Marand et al., 2000). Diese Tiere sind hyperaktiv und zeigen Beeinträchtigungen in räumlichem Lernen und in der Fähigkeit, unangemessenes Verhalten zu

unterdrücken (Gainetdinov et al., 1999). Nach einer Hypothese von Benoit-Marand und Mitarbeitern treten diese kognitiven Defizite auf, weil die erhöhte Feuerungsrate der Neuronen bei diesen Mäusen nicht in phasische Veränderungen der synaptischen DA-Konzentration übersetzt zu werden vermag (Benoit-Marand et al., 2000).

Die DA-Wiederaufnahme ist überdies für die Auffüllung der intrazellulären DA-Vesikel von Bedeutung (Gainetdinov et al., 1998). Dies zeigen ebenfalls Studien an DAT-Knock-out-Mäusen, bei denen die DA-Freisetzung in gesteigertem Maße von der DA-Synthese abhängig und diese infolgedessen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen verdoppelt ist (Jones et al., 1998, Benoit-Marand et al., 2000).

Sind die DA-Konzentrationen niedriger, als für die D₂-Rezeptoraktivierung erforderlich ist, stimuliert der DA-Transport in mesenzephalen DAergen Neuronen einen Anionenstrom, der eine exzitatorische Reaktion induziert (Ingram et al., 2003). Dies bedeutet, dass die DA-Freisetzung bei niedriger synaptischer DA-Konzentration durch den DAT faszilitiert wird. Bei höheren synaptischen DA-Konzentrationen wird dieser Effekt durch die Aktivierung inhibitorischer Autorezeptoren blockiert.

Eine weitere Studie legt nahe, dass der DAT die Freisetzung von DA auch über die Transportumkehr zu mediieren vermag; so zeigten Falkenberger und Mitarbeiter, dass die DA-Freisetzung aus Somata und Dendriten nigraler Neuronen durch die Stimulierung GLUerger Fasern aus dem Nuc. subthalamicus erhöht und durch die Applikation von DAT-Inhibitoren erniedrigt wird (Falkenberger et al., 2001). Die Autoren stellten die Hypothese auf, dass der DA-Transport dann umgekehrt wird, wenn die Dendriten über die für den DA-Transport erforderliche Änderung des Membranpotentials hinaus depolarisiert werden. Diese nicht-vesikuläre DA-Freisetzung bewirkt eine Feedback-Inhibierung der DA-Neuronen über die Aktivierung von Autorezeptoren und modifiziert auf diese Weise die zelluläre Signalweiterleitung.

1.1.5. Szintigraphische Untersuchungen der dopaminergen Synapse

1.1.5.1. Morbus Parkinson

Die Parkinsonsche Krankheit ist durch eine fortschreitende Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen gekennzeichnet. Dabei wird der nigrale Zellverlust von einer ausgeprägten Reduktion der striatalen DA-Konzentration begleitet (Ehringer & Hornykiewicz, 1960), die die Kardialsymptome der Parkinsonschen Krankheit - Bradykinese, Rigor und Tremor - hervorruft. Diese Symptome werden manifest, wenn die Zerstörung der striatalen Nervenzellen 80% übersteigt. Mit der Reduktion der nigrostriatalen DAergen Neuronen geht eine Verminderung der striatalen DAT-Dichte einher (Kaufman & Madras, 1991). Dies konnte auch für Tiermodelle der Parkinsonschen Krankheit gezeigt werden (Ito et al., 1999). Neueren Untersuchungen zufolge kann der Schweregrad der DAT-Einbußen den Verlust DAerger Neurone übersteigen (Ito et al., 1999, Lee et al., 2000). Die ist die Folge eines 'Kompensationsmechanismus', der in der Frühphase der Parkinsonschen Krankheit den Mangel an DAerger Innervation auszugleichen vermag. So zeigten Garris und Mitarbeiter, dass die DAT-Einbußen im teilweise denervierten Striatum zu einer Verringerung der DA-Wiederaufnahme führen, wodurch die synaptischen DA-Konzentrationen im Normalbereich bleiben (Garris et al., 1997).

Ein weiterer Kompensationsmechanismus besteht in der Hochregulation der striatalen D₁- und D₂-Rezeptoren (Sawle et al., 1993, Antonini et al., 1994, Ichise et al., 1999, Kaasinen et al., 2000). Dies wurde auch für Tiermodelle der Parkinsonschen Krankheit wie die 6-OHDA-lädierte Ratte berichtet. Da *in vivo* Untersuchungen dieses Tiermodells einen Schwerpunkt der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungen bildet, wird hiervon noch ausführlich die Rede sein.

Die funktionelle Bildgebung mit Positronen(PET)- und Einzel-Photonen-Emissionscomputertomographie (SPECT) ermöglicht die *in vivo* Darstellung des prä- sowie postsynaptischen DAergen Systems. Garnett und Mitarbeiter beschrieben im Jahre 1983 erstmalig die Verwendung des PET-Tracers [¹⁸F]Dihydroxyphenylalanin ([¹⁸F]DOPA), das die Visualisierung der präsynaptischen DOPA-Aufnahme und der Decarboxylierung von DOPA durch die DOPA-Decarboxylase erlaubt (Garnett et al., 1983). Da die Ratenkonstanten der [¹⁸F]DOPA-

Aufnahme mit der Anzahl der funktionalen DAergen Neuronen korrelieren, gewährt dieses Verfahren Einblicke in das Muster und den zeitlichen Verlauf der DAergen Depletion bei idiopathischem Parkinsonismus (Morrish et al., 1995, 1996, Rakshi et al., 1999, Nurmi et al., 2001, Whone et al., 2003). So konnte gezeigt werden, dass die [^{18}F]DOPA-Aufnahme beim ersten Auftreten der Parkinson-Symptome im Putamen um 30 bis 40% reduziert, im Globus pallidus internus jedoch um 30 bis 40% erhöht ist (Whone et al., 2003). Mit Fortschreiten der Erkrankung kommt es zu einer zunehmenden Verringerung der [^{18}F]DOPA-Aufnahme in der letztgenannten Region, was auf eine kompensatorische Steigerung der pallidalen DAergen Neurotransmission in der Frühphase der Erkrankung schließen lässt.

Die DAT-Verfügbarkeit kann mit etlichen PET- und SPECT-Tracern, in der Regel Strukturanaloga des Tropans, untersucht werden. Zu den ersteren gehören [^{11}C]2 β -Carbomethoxy-3 β -[4-fluorophenyl]tropan ([^{11}C]CFT, [^{11}C]WIN35,428), [^{11}C](2 β -Carbomethoxy-3 β -[4-iodophenyl]tropan ([^{11}C]RTI-32) und [^{11}C]N-(2-Fluoropropyl-2 β -carbomethoxy-3 β -[4-iodophenyl])tropan ([^{11}C] β -CIT). Gängige SPECT-Radiotracer sind [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]([2-[[2-[[[3-(4-Chlorophenyl)-8-methyl-8-azabicyclo[3,2,1]oct-2-yl]methyl]2-mercapoethyl]amino]ethyl]-amino]-ethan-ethio-lato-(3-)]oxo-[1R-(exo-exo)]) ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]TRODAT), [^{123}I]Altropan und [^{123}I]N-(2-Fluoropropyl-2 β -carbomethoxy-3 β -[4-iodophenyl]-nortropan ([^{123}I]FP-CIT). Zahlreiche Untersuchungen mit [^{123}I]FP-CIT zeigten, dass die DAT-Bindung bereits im Frühstadium des idiopathischen Parkinsonismus' erniedrigt ist (Marek et al., 1996, Staffen et al., 2000, Chouker et al., 2001, Pirker et al., 2002). Dabei wird das Striatum - insbesondere das okzipitalwärts gerichtete Putamen - unilateral schwächer dargestellt und zwar kontralateral zu der Körperseite, die erste klinische Auffälligkeiten zeigt. Die Untersuchung der DAT-Bindung mit [^{123}I]FP-CIT erlaubt die Differenzierung zwischen idiopathischem und vaskulärem Parkinsonismus sowie essentiellen Tremor, da bei den letztgenannten Erkrankungen die [^{123}I]FP-CIT-Bindung nicht von der Radioaktivitätsakkumulation bei normalen Kontrollpersonen zu unterscheiden ist. In Übereinstimmung mit den [^{18}F]DOPA-Befunden nimmt die DAT-Bindung mit zunehmender Krankheitsdauer und Schweregrad der idiopathischen Parkinson-Symptome zu (Benamer et al., 2000). Ebenso zeigen striatale [^{18}F]DOPA- und [^{123}I]FP-CIT-Bindung eine positive Korrelation (Ishikawa et al., 1996). Die Sensitivität von [^{18}F]DOPA-PET wie auch [^{123}I]FP-CIT-SPECT liegt bei etwa 90% (Benamer et al., 2003, Whone et al., 2003).

Der Morbus Parkinson hat eine präsynaptische Ursache; mithin können mit der D₂-Rezeptorszintigraphie lediglich deren postsynaptische Folgen dargestellt werden. Durch die im Frühstadium auftretende kompensatorische Hochregulation der D₂-Rezeptoren kann die DAerge Neurotransmission über einen längeren Zeitraum aufrechterhalten werden. Folglich treten in diesem Stadium lediglich geringe klinische Ausfälle in Erscheinung; PET- und SPECT-Studien mit D₂-Rezeptorliganden wie [¹¹C]Racloprid und [¹¹C]Methylspiperon ([¹¹C]MSP) beziehungsweise [¹²³I](S)-2-Hydroxy-3-iodo-6-methoxy-N-[(1-ethyl-2-pyrrolidinyl)methyl]-benzamid ([¹²³I]IBZM) zeigen im Allgemeinen eine leichte Erhöhung der striatalen D₂-Rezeptorbindung (Rinne et al., 1990, Hierholzer et al., 1992, Antonini et al., 1994, Piccini et al., 1995, Turjanski et al., 1997), die negativ mit der präsynaptischen Reduktion der [¹⁸F]DOPA-Bindung korreliert (Sawle et al., 1993). Chronische Behandlung mit DAergen Medikamenten zeitigt eine Normalisierung der D₂-Rezeptorbindung, wie sowohl mit den PET-Liganden [¹¹C]Racloprid und [¹¹C]MSP als auch mit [¹²³I]IBZM nachgewiesen werden konnte (Hagglund et al., 1987, Brucke et al., 1991, Antonini et al., 1994). Im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung ist auch die postsynaptische D₂-Rezeptorbindung infolge des abnehmenden DA-Metabolismus‘ in zunehmendem Maße verringert und im Vergleich zu Normalpersonen unauffällig bis reduziert (Hierholzer et al., 1992, Antonini et al., 1995). Für eine solche zeitabhängige Veränderung der D₂-Rezeptorbindung sprechen auch tierexperimentelle Befunde (Fornaguera et al., 1995). Mithin liegt die D₂-Rezeptorbindung in dem Stadium im Normbereich, in dem die Patienten bereits eine deutliche klinische Symptomatik zeigen und kann damit nichts zur Abgrenzung gegenüber Gesunden beitragen.

Die Multisystematrophie (MSA) umfasst verschiedene Krankheitsbilder, zu denen die olivopontozerebelläre Atrophie, das Shy-Dräger-Syndrom, die idiopathische orthostatische Hypotension und die striatonigrale Degeneration gehören. Die an MSA leidenden Patienten zeigen in der Regel neben der Parkinsonsymptomatik Augensymptome wie eine vertikale Blickparese (Parkinson-Plus-Syndrom). Im Gegensatz zum idiopathischen Parkinsonismus ist die D₂-Rezeptorbindung bei der MSA verringert (Verhoeff et al., 1990, Schwarz et al., 1992, 1993, Van Royen et al., 1993), so dass die Szintigraphie hier neben den neurologischen Auffälligkeiten differentialdiagnostische Hinweise gibt. Patienten mit einer verringerten D₂-Rezeptorbindung sind gemeinhin „Non-Responder“ im Apomorphin(APO)-Test (Schwarz et al., 1992, Schelosky et al., 1993). Mithin ermöglicht die D₂-Rezeptorszintigraphie die Differenzierung zwischen

Patienten mit einem Morbus Parkinson, die gut auf DAerge Medikation ansprechen und späteren „Non-Respondern“, die möglicherweise an MSA leiden, mit einer Sensitivität und einer Spezifität von über 80%.

Neuroleptika blockieren die postsynaptischen D₂-Rezeptoren und führen so zu einer Reduktion der DAergen Neurotransmission. Langfristig können diese Medikamente zu Spätdyskinesien führen. Bei akuter Überdosierung treten Bewegungsstörungen auf, die einem Morbus Parkinson ähnlich sind und als medikamentöses Parkinson-Syndrom bezeichnet werden. Die Blockierung der D₂-Rezeptoren führt zu einer hochgradigen Abnahme der D₂-Rezeptorbindung, so dass die Differentialdiagnose dieses Krankheitsbildes zum idiopathischen Morbus Parkinson gestellt werden kann (Reiche et al., 1995).

1.1.5.2. Schizophrenie

Alle bekannten Neuroleptika wie etwa die Butyrophenone Spiroperidol und Haloperidol (HAL) und das Benzamid Racloprid, die zur Behandlung der sogenannten Positivsymptome - zum Beispiel Halluzinationen und Wahn - eingesetzt werden, sind potente D₂-Rezeptorantagonisten (Seeman et al., 1976). Unter anderem aus diesem Sachverhalt wurde die DA-Hypothese der Schizophrenie abgeleitet, die besagt, dass die Positivsymptome und möglicherweise auch das gesamte Krankheitsbild durch eine gesteigerte D₂-rezeptormediierte DAerge Neurotransmission hervorgerufen werden. Diese Hypothese wurde durch *in vitro* Bindungsstudien bestätigt, die eine selektive Zunahme D₂-ähnlicher Rezeptoren in den Gehirnen verstorbener Schizophreniepatienten zeigten (Seeman et al., 1987). Ferner ergaben sich *in vitro* Hinweise darauf, dass in einigen Geweben psychotischer Individuen die Interaktion zwischen D₁- und D₂-Rezeptoren fehlt (Seeman et al., 1989). Darüberhinaus fanden Seeman und Mitarbeiter eine sechsfache Zunahme der D₄-Rezeptordichte in den Basalganglien verstorbener Schizophreniepatienten (Seeman et al., 1993), ein Befund, der jedoch von Reynolds und Mason nicht bestätigt werden konnte (Reynolds & Mason, 1994).

Wong und Mitarbeiter untersuchten die D₂-Rezeptorbindung schizophrener Patienten mit PET und fanden eine im Vergleich zu Kontrollpersonen erhöhte [¹¹C]MSP-Anreicherung im Nuc. caudatus (Wong et al., 1985, 1986, Tune et al., 1993). Im Einzelfall jedoch waren die

Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen nur gering und nicht allgemein vorhanden. Auch konnte der Befund einer schizophreniebedingten D₂-Rezeptorhochregulation von anderen Gruppen nicht bestätigt werden; dies gilt für PET-Untersuchungen mittels [¹¹C]Racloprid (Farde et al., 1990) ebenso wie für SPECT-Untersuchungen mit [¹²³I]IBZM als D₂-Rezeptorligand (Knable et al., 1997). Die klinische Wertigkeit der D₂-Rezeptorszintigraphie als Instrument für die Diagnose der Schizophrenie ist somit gering. Sie kann jedoch hilfreich sein, wenn der Patient auf die Standarddosis eines Neuroleptikums nicht anspricht und der Anteil der durch das Neuroleptikum besetzten Rezeptoren - die „receptor occupancy“ - quantifiziert werden muss (s. Übersichtsarbeit von Kasper et al., 2002). Zur Bestimmung der Rezeptorbesetzung ist jeweils eine Bestimmung der D₂-Rezeptorbindung vor und nach Verabreichung des Neuroleptikums erforderlich; zeigt ein Patient, der auf Neuroleptika nicht anspricht, in der D₂-Rezeptorszintigraphie eine Rezeptorbesetzung von mehr als 80%, ist eine Dosissteigerung auf Grund der hierdurch induzierten Nebenwirkungen nicht sinnvoll (Smith et al., 1988, Farde et al., 1988, 1992). Überdies kann die D₂-Rezeptorszintigraphie bei Verdacht auf ein malignes Neuroleptikasyndrom für die Differentialdiagnose zur febrilen Katatonie eingesetzt werden.

In jüngerer Zeit wurde in verschiedenen Studien auch die DAT-Bindung bei schizophrenen Patienten untersucht; als Radioliganden fanden hierbei [¹⁸F]CFT (Laakso et al., 2000, 2001), [¹²³I]β-CIT (Laruelle et al., 2000, Yoder et al., 2004, Sjöholm et al., 2004), [¹²³I]FP-CIT (Lavalaye et al., 2001) oder [^{99m}Tc]TRODAT (Hsiao et al., 2003, Schmitt et al., 2005) Verwendung. Die Ergebnisse waren inkonsistent und zeigten unveränderte (Laruelle et al., 2000, Laakso et al., 2000, Lavalaye et al., 2001, Yoder et al., 2004, Schmitt et al., 2005) wie auch erhöhte (Hsiao et al., 2003, Sjöholm et al., 2004) und erniedrigte (Laakso et al., 2001, Hsiao et al., 2003) DAT-Bindungen. Interessanterweise wurden ebenfalls bei medizierten Patienten sowohl Erhöhungen (Sjöholm et al., 2004) als auch Erniedrigungen (Laakso et al., 2001) beobachtet, während Lavalaye und Mitarbeiter keine Unterschiede in der DAT-Bindung zwischen drogennaiven Patienten, medizierten Patienten und unbehandelten Kontrollpersonen nachzuweisen vermochten (Lavalaye et al., 2001).

1.1.5.3. Drogenabusus

Mikrodialysestudien zeigten, dass Injektionen von Morphin, β -Endorphin und Enkephalin in das Ventrikelsystem oder in die ventrale tegmentale Area eine Erhöhung der extrazellulären DA- und DA-Metabolitenkonzentration im Nuc. accumbens hervorrufen (Spanagel et al., 1992, Devine et al., 1993). AMPH führt zu einer direkten Erhöhung der DA-Freisetzung, während Kokain an den DAT bindet und auf diese Weise die DA-Wiederaufnahme inhibiert (Izenwasser & Cox, 1990). Dabei bewirken die üblicherweise verabreichten Dosen eine Besetzung von 60 bis 80% der striatalen DATs, wobei das Ausmaß der Blockierung mit der verstärkenden Wirkung der Droge korreliert (Volkow et al., 1997). Überdies zeitigen die erhöhten DA-Konzentrationen im synaptischen Spalt eine zwei- bis dreifache adaptive Zunahme der D₃-Rezeptoren in Striatum und Substantia nigra (Staley & Mash, 1996). Kokainentzug führt andererseits zu einer lang anhaltenden Abnahme der DAT-Konzentrationen im mesolimbischen DAergen System (Boulay et al., 1996).

Die Applikation von AMPH oder den DAT-Liganden Kokain und Methylphenidat (MP) ermöglicht eine indirekte Quantifizierung der stimulanzeninduzierten DA-Ausschüttung: so erhöht Kokain nach akuter Verabreichung durch die vermehrte Freisetzung von endogenem DA die Auswaschrates von D₂-Rezeptorliganden und induziert auf diese Weise eine messbare Verringerung der D₂-Rezeptorbindung (Mach et al., 1997). Eine Reduktion der D₂-Rezeptorbindung wurde ebenso nach Gabe von AMPH und MP beobachtet (Volkow et al., 1994, Breier et al., 1997). Dabei wurde jedoch bei chronischem Kokainabusus eine im Vergleich zu Normalprobanden verringerte DA-Freisetzung nach AMPH-Challenge nachgewiesen (Volkow et al., 1997). Hieraus ergeben sich mögliche Anwendungen der D₂-Rezeptorszintigraphie bei Drogenabhängigen, aber auch anderen Patientenkollektiven; so wurde beispielsweise bei schizophrenen Patienten eine Erhöhung der AMPH-induzierten Freisetzung von DA beobachtet (Breier et al., 1997).

1.1.5.4. Manie und Depression

Der Umstand, dass Neuroleptika zur Behandlung der Manie eingesetzt werden können,

lässt auf eine Beteiligung des DAergen Systems an der Pathogenese dieser Erkrankung schließen. Überdies legt der stimmungsaufhellende Effekt DA-agonistischer Pharmaka die Vermutung nahe, dass DA an der Entstehung der Depression beteiligt ist (Silverstone, 1985). Entsprechend konnte gezeigt werden, dass antidepressive Medikamente die DA-Wiederaufnahme in spezifischen Gehirnregionen wie dem Nuc. accumbens und dem präfrontalen Kortex inhibieren (Carboni et al., 1990, De Montis et al., 1990). Überdies führt die Langzeitbehandlung mit Antidepressiva zu einer Potenzierung der D₂-/D₃-Rezeptorfunktion in mesolimbischen Regionen und zu einer Desensibilisierung der präsynaptischen DA-Autorezeptoren im präfrontalen Kortex (Serra et al., 1979).

Depressive Patienten zeigen eine im Vergleich zu Kontrollen unilateral reduzierte Bindung von [¹²³I]β-CIT an den DAT (Neumeister et al., 2001). Überdies konnte *in vivo* mit [¹²³I]IBZM und SPECT gezeigt werden, dass die D₂-Rezeptorbindung bei depressiven Patienten im Vergleich zu Kontrollpersonen erhöht ist (D'haenen et al., 1994). Die Unterschiede sind jedoch gering; die Befunde konnten von Larisch und Mitarbeitern für Striatum und vorderes Zingulum reproduziert werden (Larisch et al., 1997), während Volkow und Mitarbeiter eine Verringerung der D₂-Rezeptorbindung fanden (Volkow et al., 1997). Mithin ist gegenwärtig die Wertigkeit der D₂-Rezeptorszintigraphie für die Diagnose der Depression gering, doch liefert sie objektive biologische Parameter, die zu einer besseren Therapie der Patienten genutzt werden können (s. Übersichtsarbeit von Larisch & Klimke, 1998): so konnte gezeigt werden, dass erfolgreich mit 5-HT-Wiederaufnahmehemmern behandelte Patienten im Therapieverlauf eine Zunahme der D₂-Rezeptorbindung an den Tag legten (Larisch et al., 1997). Ferner ergab sich, dass Patienten mit einer niedrigen D₂-Rezeptorbindung vor Therapiebeginn mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Behandlung mit 5-HT-Wiederaufnahmehemmern ansprachen. Patienten mit hoher D₂-Ausgangsbindung zeigten zum großen Teil keine Besserung der Symptome (Klimke et al., 1998). Das Gegenteil ergab sich für die Schlafentzugsbehandlung: Patienten mit hoher D₂-Rezeptorbindung sprachen gut an, während sich Patienten mit einem niedrigen Ausgangsniveau als Non-Responder erwiesen (Ebert et al., 1994).

1.1.5.5. Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom

Das Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom (ADHS) ist mit einer Prävalenz von 5 bis 10% die im Kindesalter am häufigsten auftretende psychiatrische Erkrankung (s. Übersichtsarbeit von Castellanos, 1997). Sie kann sich bis ins Erwachsenenalter hinein fortsetzen und zeigt ein klinisches Erscheinungsbild, das durch ausgeprägte motorische Aktivität, Impulsivität und Konzentrationsstörungen gekennzeichnet ist. Die neurobiologische Ursache der Erkrankung ist unbekannt; da sich jedoch Stimulanzien wie MP als wirksam bei der Behandlung von ADHS erwiesen haben, wurde frühzeitig auf eine Dysregulation des DAergen Systems bei Patienten mit ADHS geschlossen (Satterfield & Dawson, 19971).

Die Wirkung von DA besteht darin, die vom Neokortex ausgehende Aktivierung des striato-thalamo-kortikalen Schaltkreises (Abb. 1) zu verstärken, indem es sowohl die Neurotransmission über die exzitatorisch wirkende „direkte“ als auch über die inhibitorisch wirkende „indirekte“ Faserverbindung faszilitiert (Hirata et al., 1984, Hirata & Mogenson, 1984, Hong et al., 1985, Pan et al., 1985, Young et al., 1986, Bouras et al., 1986). Bei ADHS geht man allgemein von einem erhöhten exzitatorischen Tonus in den „direkten“ und/oder einem verringerten inhibitorschen Tonus in den „indirekten“ Faserverbindungen des striata-thalamo-kortikalen Schaltkreises aus (s. Übersichtsarbeit von Castellanos, 1997). Im Besonderen wird angenommen, dass die mit ADHS einhergehenden kognitiven Beeinträchtigungen mit einer erniedrigten DAergen Neurotransmission im präfrontalen Kortex in ursächlichem Zusammenhang stehen, während Hyperaktivität und möglicherweise auch Impulsivität durch eine sekundär erhöhte DAerge Neurotransmission im Striatum verursacht werden (Solanto, 2002). Medikamente wie MP, die über Bindung an den DAT die DA-Wiederaufnahme blockieren und die DA-Freisetzung stimulieren, erhöhen demnach die präfrontale DAerge Neurotransmission und induzieren auf diese Weise eine Reduktion der kognitiven und behavioralen Beeinträchtigungen.

Die erste *in vivo* Untersuchung der präsynaptischen DOPA-Aufnahme mit PET zeigte bei adoleszenten ADHS-Patienten eine gesteigerte [^{18}F]DOPA-Akkumulation im rechten Mesenzephalon (Ernst et al., 1998). Im Gegensatz hierzu war die [^{18}F]DOPA-Aufnahme bei unbehandelten adulten ADHS-Patienten im linken und medialen Präfrontalkortex erhöht, während sich keinerlei Unterschiede zu Kontrollpersonen in Striatum und Mesenzephalon fanden

(Ernst et al., 1999). Überdies wurde mit [^{123}I]Altropan-SPECT bei adulten ADHS-Patienten eine im Vergleich zu gesunden Kontrollen um 70% erhöhte striatale DAT-Dichte nachgewiesen (Dougherty et al., 1999). Der nämliche Befund wurde von der Arbeitsgruppe um Tatsch erbracht, die bei adulten ADHS-Patienten mit dem DAT-Liganden [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]TRODAT eine Erhöhung der striatalen DAT-Dichte um 17 (Dresel et al., 2000) beziehungsweise 16% (Krause et al., 2000) nachzuweisen vermochte. Larisch und Mitarbeiter beobachteten mit [^{123}I]FP-CIT als Radioligand bei gleichfalls adulten Patienten eine Zunahme der striatalen DAT-Bindung um lediglich 5% (Larisch et al., 2006). Im Gegensatz hierzu wurde in einer Studie mit [^{123}I]β-CIT bei adulten Patienten keine Erhöhung der striatalen DAT-Dichte gefunden (van Dyck et al., 2002). Bei Kindern mit ADHS jedoch war die striatale Akkumulation von [^{123}I]N-(3-Iodopropen-2-yl)-2β-carbomethoxy-3β-(4-chlorophenyl)tropan ([^{123}I]IPT) im Vergleich zu gesunden Kontrollen linksseitig um 40 und rechtsseitig um 51% erhöht (Cheon et al., 2003). Dabei bestand keine Korrelation zwischen der DAT-Bindung und dem Schweregrad der ADHS-Symptome. Nach Langzeitbehandlung mit MP wurde bei adulten ADHS-Patienten eine Reduktion der [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]TRODAT-Bindung um 30% nachgewiesen (Dresel et al., 2000, Krause et al., 2000).

Bei gesunden Versuchspersonen konnte mittels [^{11}C]Racloprid-PET gezeigt werden, dass sowohl intravenös als auch oral verabreichtes MP zu einer Reduktion der striatalen D₂-Rezeptorbindung führt (Volkow et al., 1994, 1999, 2001); den nämlichen Befund erbrachten Booij und Mitarbeiter mittels [^{123}I]IBZM-SPECT (Booij et al., 1997); diese Studien lieferten den direkten *in vivo* Nachweis für die MP-induzierte Erhöhung der extrazellulären DA-Konzentration. Dabei liegt die für eine 50%ige DAT-Blockade erforderliche orale MP-Dosis bei 0.25 mg/kg (Volkow et al., 1998); in einer Studie mit [^{11}C]MP-PET konnte zudem gezeigt werden, dass die maximale striatale MP-Konzentration nach 60 Minuten erreicht wird (Volkow et al., 1998).

1.2. Untersuchungen des dopaminergen Systems mit der Kleintiertomographie

1.2.1. Einführung in die Kleintiertomographie mit PET und SPECT

Eine Vielzahl nuklearmedizinischer Fragestellungen kann aus ethischen und strahlenschutzrechtlichen Gründen nicht am Menschen untersucht werden. Hierzu gehören zum einen Untersuchungen – etwa zur Toxizität oder zur Biodistribution - die mit der Evaluierung neuer Radioliganden in Zusammenhang stehen. Zum anderen sind gezielte Eingriffe in die synaptischen Regulationsmechanismen nur eingeschränkt möglich, da sich die Applikation von Neurotoxinen ebenso verbietet, wie die Verabreichung von Pharmakadosen mit zu hohem Nebenwirkungspotential. Hinzu kommt, dass sich Menschen, selbst wenn es sich um gesunde Kontrollpersonen handelt, und hinsichtlich ihres Alters, ihres Geschlechtes und ihrer Vorgeschichte – etwa ihrer Schulbildung oder ihres Familienstandes - kontrolliert wird, in wichtigen Faktoren wie ihren erblichen Anlagen, ihrer psychischen Befindlichkeit und ihren Lebensgewohnheiten unterscheiden können.

Der große Vorteil des Tierexperimentes ist, dass eine Vielzahl dieser Einflussfaktoren auf die Neurochemie des Gehirns durch die Verwendung von Auszuchtstämmen und standardisierte Laborhaltung ausgeschlossen werden kann. So haben insbesondere Untersuchungen an Ratten- und Mäusemodellen wichtige Beiträge zum Verständnis vieler humaner Erkrankungen wie Morbus Parkinson (s. Übersichtsarbeit von Schwarting & Huston, 1996a, b), Morbus Huntington (s. Übersichtsarbeit von Hersch & Ferrante, 2004) oder ADHS (s. Übersichtsarbeit von Cabib et al., 2002) geleistet. Die *in vivo* Untersuchung neurobiologischer Fragestellungen an Nagetieren erfordert jedoch die Entwicklung dedizierter bildgebender Systeme, deren tomographische räumliche Auflösung diejenige konventioneller klinischer Scanner übersteigen muss, um der Kleinheit der Zielregionen Rechnung zu tragen. Auch die Sensitivität der Scanner muss hoch sein, da zum einen die spezifische Aktivität von PET-Radiotracer in der Größenordnung von nur 100 MBq/nmol liegt (Hume et al., 1998) und nicht beliebig große Stoffmengen appliziert werden können, ohne das Tracerprinzip zu verletzen und zum anderen eine hohe Sensitivität eine Verkürzung der Messzeiten und damit eine geringere Belastung des Versuchstieres durch die

Anästhesie erlaubt. Da Auflösung und Sensitivität bestimmten physikalischen Limitierungen unterliegen, ist die verwendete Technik entscheidend für die Größe der DAerg innervierten Zielregionen, die mit einer bestimmten Kamera untersucht werden können.

Wir tragen dieser Problematik dadurch Rechnung, dass wir in den nächsten Kapiteln eine Einführung in PET- und SPECT-Methodik geben. Nach einer Übersicht über die Faktoren, die die Leistungscharakteristika der bildgebenden Systeme determinieren, kommen wir zur Darstellung der DA-Rezeptor- und -Transporteruntersuchungen, die bislang an Ratten mit Kleintier-PET und -SPECT durchgeführt wurden.

1.2.1.1. Grundlagen der PET

Signaldetektion. Beim radioaktiven β^+ -Zerfall werden Positronen freigesetzt, die beim Zusammentreffen mit Elektronen annihiliert werden. Bei diesem Vernichtungsereignis entstehen zwei Gammaquanten mit einer Energie von jeweils 511 keV, die in einem Winkel von 180° emittiert werden. Bei der PET werden diese Annihilationsphotonen von Szintillationsdetektoren – meist Kristallen - registriert, wobei ein Vernichtungsereignis angenommen wird, wenn zwei Photonen innerhalb eines innerhalb eines Zeitfensters im Nanosekundenbereich auf zwei in Koinzidenz geschalteten Detektoren auftreten. Die Annihilationsphotonen interagieren mit den Detektoren über photoelektrische und Compton-Effekte. Das Kristallgitter nimmt durch die absorbierte Energie einen höheren Energiezustand ein, aus dem es nach einer bestimmten Szintillationszeit t (ns) in seinen alten Energiezustand zurück fällt. Dabei werden Szintillationsphotonen emittiert, die von den Photokathoden der Photomultiplier (PMTs) aufgenommen und in messbaren elektrischen Strom umgewandelt werden.

Physikalische Grenzen der Auflösung. Bei der PET wird der Ort der Annihilation von Positron und Elektron, nicht aber der Ort der Positronenemission bestimmt. Der Grund hierfür ist die Positronenreichweite, die von der Elektronendichte des Mediums abhängt und in Wasser, dem Hauptbestandteil biologischen Gewebes, 1 bis 2 mm beträgt. Durch die thermische Energie und den Impuls der Teilchen kann überdies der Emissionswinkel θ der Photonen von 180° abweichen (2θ -Non-Kollinearität). Die Abweichungen folgen einer Gauss-Verteilung mit einer Halbwertsbreite („full width at half maximum“, FWHM) von etwa 0.5° . Da $FWHM \approx \theta \times D/4 =$

$0.0022 \times D$ (D, Durchmesser des Dektorrings), ergibt sich bei einem θ von 0.5° ein Beitrag zur Ortsauflösung von 2.2 mm FWHM pro Meter Detektorabstand.

Auswirkung von Szintillatoreigenschaften auf die Performance. Der Schwächungskoeffizient μ (cm^{-1}) ist ein Maß für die beim Eintritt in den Kristall durch Absorption und Streuung verursachte Schwächung. Der Schwächungskoeffizient wird durch die Dichte ρ des Kristalls und die effektive Kernladungszahl Z_{eff} bestimmt (Tab. 1). Für eine hohe intrinsische Effizienz sollte Szintillatormaterial mit möglichst großen ρ und Z_{eff} verwendet werden, da mit zunehmendem μ die Photonen weniger tief in den Kristall eindringen; hierdurch wird die Wahrscheinlichkeit, dass schräg eintreffende Photonen in den angrenzenden Kristall penetrieren, verringert und die Verschlechterung der Ortsauflösung durch falsche Zuordnungen („parallax error“) minimiert..

Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Kristallgeometrie: werden Kristalle mit großen radialen Längen verwendet, erhöht sich die Sensitivität, während eine bessere Ortsauflösung durch eine Verkleinerung der Querschnittsflächen erreicht werden kann. Um bei möglichst hoher Auflösung eine hinreichende Sensitivität zu gewährleisten, sollten die radialen Längen - bei den zumeist verwendeten Wismutgermanat(BGO)-Kristallen - 30 mm nicht unterschreiten. Treffen die Photonen senkrecht auf die Vorderfläche des Kristalls, so ist seine radiale Länge ohne Bedeutung für die räumliche Zuordnung der Photoneninteraktion. Am Rand des Messfeldes („field of view“, FOV) treten die Photonen im Allgemeinen nicht mehr durch die Vorderfläche, sondern durch die Seitenflächen in die Kristalle ein; aus der nicht bestimmbaren Interaktionstiefe („depth of interaction“, DOI) resultiert eine ungenaue Ortsbestimmung und damit eine Verschlechterung der Bildqualität.

Tab. 1. Gebräuchliche Szintillationskristalle und ihre physikalischen Eigenschaften

	NaI	BGO	YAP	GSO	LSO
Z_{eff}	51	75	36	58.6	66
ρ (g/cm^3)	3.67	7.13	5.27	6.71	7.4
N_{ph} (Photonen/MeV)	38000	8500	18000	10000	30000
T (ns)	230	300	27	60	40
μ (cm^{-1})	0.390	0.890	0.550	0.698	0.880
μ_{max} (nm)	410	480	370	440	420
N	1.85	2.15	1.95	1.85	1.82
QE für Bialkalianode	0.207	0.164	0.191	0.191	0.232

Photonenausbeute N_{ph} (Photonen/MeV) und Szintillationszeit t (ns) sind weitere wichtige physikalische Eigenschaften des Szintillators (Tab. 1). Die intrinsische Energieauflösung eines Kristalls wird durch das Ausmaß der statistischen Streuung der emittierten Szintillationsphotonen determiniert. Dabei nimmt die statistische Streuung mit steigendem N_{ph} mit $(N_{ph})^{-1/2}$ ab. Verschiedene Faktoren beeinflussen die Anzahl der Szintillationsphotonen: hierzu gehören unter anderem die Kristallinhomogenität und Non-Uniformität der Kristallluminosität. Um eine hohe Zählrate zu gewährleisten, sollte t möglichst klein sein: eine kurze Szintillationszeit verbessert die zeitliche Auflösung, woraus wiederum eine Verkleinerung des Koinzidenzzeitfensters und eine Reduktion der Rate an zufälligen Koinzidenzen resultieren. Der Hauptbeitrag zur Halbwertsbreite der Szintillationszeitschwankungen Δt ergibt sich aus dem Verhältnis der Zerfallskonstante des Kristalls λ zur Photonenausbeute N_{ph} ; damit ist es möglich, durch den Einsatz von Kristallen mit moderater Photonenausbeute, aber niedrigen Zerfallskonstanten eine gute zeitliche Auflösung zu erreichen.

Die Emissionswellenlänge λ (nm) des Szintillationslichtes sollte den Response-Charakteristika von Photodetektor/Photokathode entsprechen. PET-Szintillatoren sollten ihre maximale Szintillationsintensität (I_{max}) zwischen 380 und 440 nm erreichen (Tab. 1), da die maximale Sensitivität der im Allgemeinen mit Bialkali-Photokathoden ausgestatteten PMTs in diesem Wellenlängenbereich liegt. Von der Emissionswellenlänge des Szintillationslichtes hängt die Photoelektronenausbeute ab; da die Photonenenergie umgekehrt proportional zur Wellenlänge ist (Planck'sches Gesetz), bedingen kürzere Wellenlänge eine größere Photoelektronenausbeute. Idealerweise sollte jedes durch den Detektor emittierte Szintillationsphoton von der Photokathode in ein Photoelektron umgewandelt werden; in Wirklichkeit liegt die Umwandlungswahrscheinlichkeit für kommerziell erhältliche PMTs bei 20 bis 30%. Diese Größe wird als Quanteneffizienz (QE) der Photokathode bezeichnet und als die emittierte Anzahl von Photoelektronen pro einfallendes Lichtphoton definiert.

Infolge optischer Brechung zwischen dem Szintillator und dem PMT-(Glas)fenster können Lichtquantenverluste auftreten; überdies können die Lichtquanten bei einem Einfallswinkel größer als der kritische, durch das Snellsche Gesetz definierte Winkel $\theta_k = \sin^{-1}(n_1/n_0)$ in den Szintillator zurückreflektiert werden, wobei n_1 und n_0 die Brechungsindices von Szintillator und Glasfenster bezeichnen. Da der für die Glasfenster typische Brechungsindex 1.5 beträgt, reduziert sich die Reflektion bei Szintillatoren mit einem niedrigeren Brechungsindex

(zum Beispiel Gadoliniumoxyorthosilicat [GSO], $n = 1.85$ gegenüber BGO, $n = 2.15$)

Bei den dedizierten Kleintier-PET-Kameras können Scanner auf der Grundlage von (1) Kristalldetektoren und PMTs (Tomitani et al., 1985, Brownell et al., 1989, Rouze et al., 1989, 2003, Bloomfield et al., 1995, Derenzo et al., 1987, del Guerra et al., 1998, Watanabe et al., 1992, 1997, Lecomte et al., 1994, Cherry et al., 1996, Correia et al., 1999, Siegel et al., 1999, Tai et al., 2001, 2005, Zhang et al., 2002, Surti et al., 2003, Vaquero et al., 2004), (2) Kristalldetektoren und Avalanche-Photodioden (APDs; Lecomte et al., 1994, Ziegler et al., 2001) und (3) Drahtkammertechnik (Tavernier et al., 1992, Mc Kee et al., 1994, Jeavons et al., 1999, Missimer et al., 2004) unterschieden werden (s. Tab. I im Anhang).

Zurzeit existieren weltweit 26 dedizierte Kleintier-PET-Systeme, die entweder kommerziell verfügbar sind oder in einzelnen Forschungsinstituten für die Untersuchung spezifischer Fragestellung entwickelt wurden. Zu den ersteren gehören verschiedene Generationen des MicroPETs (Concorde Microsystems Inc., Knoxville, USA) sowie das MOSAIC-PET (Philips, Eindhoven, Niederlande) auf der Basis von Szintillationskristallen und das quad-HIDAC (Oxford Positron Systems, Oxford, UK) mit Drahtkammerdesign. Das YAP-(S)PET ist ein kristall-basierter Hybridscanner und wird von I.S.E. Ingegneria dei Sistemi Elettronici s.r.l. (Vecchiano, Italien) vertrieben. MicroPET®Focus_{TM} 120 und –220 sowie quad-HIDAC sind durch eine überragende Auflösung gekennzeichnet, während das YAP-(S)PET bei deutlich unterlegener Auflösung den Vorteil hat, dass es die simultane Durchführung von PET- und SPECT-Untersuchungen an demselben Tier erlaubt.

Für die Kameras auf der Grundlage von Szintillationskristallen und PMTs wird eine Auflösung um 2 mm FWHM bei einer maximalen Sensitivität von ≈ 20 cps/kBq (Punktquelle) beziehungsweise > 500 cps/kBq/ml (Zylinderphantom) beschrieben. Die Kopplung von Szintillationskristallen an APDs ermöglicht ebenfalls eine Auflösung von bis zu 2 mm; die Sensitivität der entsprechenden Kameras ist jedoch bis zu einem Faktor 4 niedriger. Für Kameras mit Drahtkammertechnik wird eine Auflösung von bis zu 1 mm bei einer Sensitivität bis zu 1500 cps/kBq/ml beschrieben (s. Tabelle I im Anhang).

Dabei ist jedoch ein direkter Vergleich der Performance der einzelnen Systeme nur eingeschränkt möglich, da die Konfigurationen der Kameras stark voneinander abweichen: so stehen Kameras mit einem oder mehreren Detektorringen neben Kameras mit zwei oder vier stationären oder rotierenden Detektoren, Kameras mit zirkulären neben Kameras mit polygonalen

Detektorringanordnungen, Kameras auf Kristalldetektorbasis neben Kameras mit Drahtkammertechnologie und Kameras mit PMT- neben Kameras mit Photodiodenauslesung. Zudem existieren bis *dato* keine verbindlichen Standards für die Bestimmung der Leistungscharakteristika von Kleintiertomographen; Auflösung und Sensitivität werden infolgedessen von den einzelnen Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Phantomen und unter Zugrundelegung unterschiedlicher Energieschwellen gemessen. Hinzu kommt, dass sich auch die gemessenen Parameter unterscheiden können: so geht aus Tab. I im Anhang hervor, dass in den einzelnen Publikationen, die die Evaluierung der Kameras zum Gegenstand haben, die Sensitivitäten als Funktion der Radioaktivität (in cps/kBq) oder als Funktion der Radioaktivitätskonzentration (in cps/kBq/ml) mitgeteilt werden. Dabei zeigt die Untersuchung von Rouze und Hutchins zum IndyPET-II, wie sich die gemessenen Sensitivitäten in Abhängigkeit von den Messverfahren unterscheiden können (Rouze & Hutchins, 2003): die Bestimmung der Sensitivität nach den Standards der National Electrical Manufacturers Association (NEMA-2001; Rosslyn, USA) erfolgte mit einer radioaktivitätsgefüllten Linienquelle, die von bis zu fünf konzentrischen Metallröhren umgeben war und ergab eine Sensitivität von 9030 cps/MBq (s. Tab. I im Anhang) im zentralen FOV. Die Bestimmung der Sensitivität nach NEMA-1994 wurde hingegen mit einem Standardtestphantom ($\varnothing$, 20 cm) durchgeführt und ergab einen Wert von 23.0 cps/MBq/ml. Hinzu kam die Ermittlung der Zählraten-Performance nach NEMA-2001, die eine „wahre Koinzidenz“-Sensitivität von 9.1 kcps/kBq/ml ergab. Ähnlich umfassend war die Evaluierung des A-/MOSAIC-PETs (Surti et al., 2003, www.medical.philips.com): die Sensitivität dieser Kamera wurde zum einen als „absolute“ Sensitivität mit einer Punktquelle im zentralen FOV (1.4%) und unter „NEMA-ähnlichen“ Bedingungen mit einer Linienquelle bestimmt, die von bis zu fünf konzentrischen Metallröhren umgeben war (6 cps/kBq, s. Tab. I im Anhang). Dem folgte eine Untersuchung der Zählraten-Performance mit zylinderförmigen Mäuse- und Rattenphantomen, die bei Durchmessern von 30 beziehungsweise 51 mm „wahre Koinzidenz“-Sensitivitäten von 539 und 1800 cps/kBq/ml ergaben. Lediglich in den Veröffentlichungen von Lecomte sowie Bloomfield und Mitarbeitern wurden Messungen der Sensitivität und Zählraten-Performance in ähnlichem Umfang mitgeteilt (Lecomte et al., 1994, Bloomfield et al., 1995). Da die Autoren auch nicht in allen Fällen relevante Parameter wie die Art der verwendeten Quelle, die eingefüllte Radioaktivitätsmenge oder der zugrunde gelegte Schwellenwert angegeben werden, erlauben die mitgeteilten Werte

lediglich, die Größenordnung der Sensitivität abzuschätzen. Dies ist unbefriedigend und unterstreicht die Forderung nach der Einführung verbindlicher Standards für die Bestimmung der Performance-Charakteristika.

Verbesserungen der Kleintier-Bildgebung mit PET zielen gegenwärtig auf die Entwicklung neuartiger Kameras, wie etwa der RatCAP-Scanner (Shokouhi et al., 2003), der die Bildgebung am Gehirn wacher, frei beweglicher Tier ermöglichen soll. Überdies werden Halbleiterdetektoren - etwa aus Germanium - entwickelt, die elektronisch segmentiert werden können und damit eine im Vergleich zu Kristalldetektoren feinere Pixellierung aufweisen (Phlips et al., 2002). Zudem kann der Zeitunterschied zwischen dem Eintreffen eines Photons auf der Unterseite und der Oberseite des Detektors gemessen werden, was eine noch exaktere Bestimmung der DOI ermöglicht.

1.2.1.3. Grundlagen der SPECT

Signaldetektion. SPECT-Kameras detektieren ebenfalls Gammaquanten, die beim radioaktiven Zerfall emittiert werden. Im Gegensatz zum monoenergetischen Photonenpaar, das bei der Positronannihilation entsteht, kann die Strahlung der SPECT-Nuklide Energiespektren mit multiplen Peaks aufweisen. Überdies unterliegt die Detektion keiner Koinzidenzbedingung. Die räumliche Auflösung mittels Kollimation durch Bleiplatten, in die Matrizen kleiner Löcher gebohrt sind. Mit niedrig-energetischen hoch („low-energy high-resolution“, LEHR) und ultra-hoch auflösenden („low-energy ultra-high-resolution“, LEUHR) Kollimatoren liegt die räumliche Auflösung bei planaren und tomographischen Aufnahmen mit konventionellen klinischen Scannern in der Größenordnung von 4 bis 8 beziehungsweise 6 bis 10 mm (FWHM).

Kollimation. Für die molekulare Kleintierbildgebung wurden im Laufe des letzten Jahrzehnts zahlreiche dedizierte SPECT-Kameras entwickelt (Klein et al., 1995, Valda Ochoa et al., 1997, Del Guerra et al., 2000, Kastis et al., 2000, MacDonald et al., 2001, www.gammamedica.com, Taylor et al., 2004). Für die Detektion werden dabei Szintillationskristalle oder Halbleiterdetektoren eingesetzt; die räumliche Auflösung erfolgt mittels Pinhole- oder Parallellochkollimatoren (s. Tab. II im Anhang).

Bei der Pinhole-Kollimation wird ein vergrößertes Bild des Objektes auf die

Detektoroberfläche projiziert, wobei die Vergrößerung mit zunehmendem Abstand zwischen Pinhole und Detektoroberfläche und abnehmendem Abstand zwischen Objekt und Pinhole zunimmt. Die räumliche Auflösung R im rekonstruierten Bild ist besser als die intrinsische Auflösung des Detektors und folgt der Formel

$$R = \left\{ \left(\frac{x}{f} \right)^2 [R_i^2 + \left(\frac{f+x}{x} \right)^2 d_e^2] \right\}^{1/2}$$

wobei f die fokale Länge des Kollimators, x die Entfernung zwischen Objekt und Pinhole, R_i die intrinsische Detektorauflösung und d_e den effektiven Pinhole-Durchmesser mit

$$d_e = \left[d \left(d + \frac{2}{\mu} \tan \frac{\alpha}{2} \right) \right]^{1/2}$$

bezeichnet. Dabei ist d der Pinhole-Durchmesser, μ der Schwächungskoeffizient des Kollimatormaterials und α der Akzeptanzwinkel der Apertur.

Die geometrische Sensitivität S des Pinhole-SPECTs wird im Wesentlichen durch das Verhältnis von Pinhole-Durchmesser zum Abstand zwischen Apertur und Objekt bestimmt und nimmt zu, wenn das Pinhole vergrößert und/ oder näher an das abzubildende Objekt bewegt wird. Sie ergibt sich aus der Formel

$$S = \frac{d_e^2 \cos^3 \theta}{16x^2}$$

wobei θ den durch den Gammaquanten und die zentrale Achse aufgespannten Emissionswinkel bezeichnet. Sind x , f und R_i bekannt, kann d variiert werden, um eine bestimmte Auflösung R_0 zu erreichen. Mithin kann einerseits die Auflösung zu Lasten der Sensitivität durch den Einsatz möglichst kleiner und andererseits die Sensitivität zu Lasten der Auflösung durch den Einsatz möglichst großer Pinholes maximiert werden. Dabei ist jedoch innerhalb gewisser Grenzen, die sich aus der maximal möglichen Dauer der Anästhesie und den Erfordernissen des Tracer-Prinzips ergeben, eine Kompensation niedriger Sensitivitäten durch längere Messzeiten und Applikation höherer Radioaktivitätsdosen möglich. Grundsätzlich ist Pinhole-Kollimation günstig für Untersuchungen an kleinen Objekten, die sowohl eine hohe Auflösung, als auch eine hohe Sensitivität erfordern.

Ein Sonderfall der Pinhole-Methode ist die Verwendung von mehreren an Stelle eines einzelnen Pinholes pro Detektor (Meikle et al., 2001, 2003, Schramm et al., 2003, Wirwar et al., 2003). Bei dieser sogenannten Multipinhole-Technik wird das ganze Objekt durch jedes Pinhole

auf einen Teil des Detektors abgebildet. Um die Abdeckung des gesamten FOVs zu erreichen, sind die Pinhole-Achsen in axialer und transaxialer Richtung geneigt. Ein Vorteil dieser Technik ist, dass die Detektorfläche besser genutzt wird, was zu einer beträchtlichen Steigerung der Sensitivität führt.

Bei der Parallellochkollimation verschlechtert sich die Auflösung mit zunehmendem Abstand zwischen Objekt und Kollimator mit

$$R_0 = [R_i^2 + R_g^2]^{1/2}$$

wobei R_g die geometrische Auflösung mit

$$R_g = \frac{d(a_e + b + c)}{a_e}$$

bezeichnet. Dabei ist b die Entfernung zwischen Objekt und Kollimator, c die Entfernung vom Ende des Kollimators bis zur Mitte des Szintillationskristalls und d der Lochdurchmesser. Die effektive Lochlänge a_e errechnet sich aus der physikalischen Lochlänge a und dem Schwächungskoeffizienten μ nach

$$a_e = \frac{a - 2}{\mu}$$

Die Sensitivität bleibt bei zunehmender Entfernung annähernd konstant mit

$$S_g = \left[\frac{Gd^2}{a_e(d + y)} \right]^2$$

wobei y die Septendicke und G einen Faktor bezeichnet, der sich aus der geometrischen Form der Kollimatorlöcher ergibt. Infolgedessen ist Parallellochkollimation insbesondere dann von Vorteil, wenn für eine bestimmte Untersuchung eine hohe Ortsauflösung nicht zwingend erforderlich ist. Ein Beispiel hierfür ist die Untersuchung der DAT- oder Dopamin D_2 -Rezeptorbindung im Striatum der Ratte (Wirrwar et al., 2005a).

Zurzeit existieren weltweit etwa 20 SPECT-Systeme, die für die Bildgebung an Kleintieren eingesetzt werden können. Dabei kann grundsätzlich zwischen Kameras auf der Grundlage von (1) Kristalldetektoren und Auslesung durch PMTs (Klein et al., 1995, Valda Ochoa et al., 1997, Del Guerra et al., 2000, MacDonald et al., 2001, www.gammamedica.com, www.bioscan.com), (2) Kristalldetektoren und Auslesung durch „charge-coupled devices“ (CCDs; Taylor et al., 2004) und (3) Halbleiterdetektoren und Auslesung über sogenannte „anwendungsspezifische integrierte Schaltkreise“ (ASICs; Kastis et al., 2000) unterschieden werden (s. Tab. II im Anhang).

Neun Tomographen wurden speziell für die Kleintierbildgebung entwickelt (Klein et al., 1995, Valda Ochoa et al., 1997, Del Guerra et al., 2000, Kastis et al., 2000, MacDonald et al., 2001, Taylor et al., 2004, www.gammamedica.com, www.bioscan.com). Von diesen Systemen sind derzeit A-/X-SPECT (FLEXTM; Gamma Medica Inc., Northridge, USA), YAP-(S)PET (ISE, Vecchiano, Italien) und NanoSPECT (Bioscan Inc, Washington, USA) kommerziell erhältlich. Die übrigen SPECT-Systeme sind konventionelle, klinische Scanner, die mit Pinhole- (Strand et al., 1993, Jaczak et al., 1994, Ishizu et al., 1995, Yukihiro et al., 1996, Ogawa et al., 1998, Yokoi & Kishi, 1998, Acton et al., 2002, Scherfler et al., 2002; s. Tab. III im Anhang) oder Multipinhole-Kollimatoren (Schramm et al., 2003, Wirrwar et al., 2003; s. Tab. III im Anhang) für die Untersuchung kleiner Labortiere aufgerüstet wurden. Dabei ist die Multipinholetechnik für klinische Systeme nach Schramm und Mitarbeitern unter dem Produktnamen HiSPECT (Scivis GmbH, Göttingen und Bioscan, Inc., Washington USA) kommerziell verfügbar. Einige mit Pinhole-Kollimatoren aufgerüstete klinische Scanner verfügen über zusätzliche mechanische Vorrichtungen zur optimierten Bildgebung bei Ratten und Mäusen (Wu et al., 1999, Habraken et al., 2001, Sohlberg et al., 2004, Zeniya et al., 2004) und wurden aus diesem Grund in der Übersicht im Anhang unter die dedizierten Kleintier-SPECT-Systeme aufgenommen.

X-SPECT und NanoSPECT haben den Vorteil, dass sie die Koregistrierung von funktionellen und morphologischen Bildern erlauben. NanoSPECT beruht auf der Multipinholetechnik, während beim X-SPECT wahlweise Pinhole- oder Parallellochkollimatoren eingesetzt werden können. Das YAP-(S)PET hat – wie bereits in Kapitel 1.2.1.2 erwähnt - den besonderen Vorteil, dass es die (gleichzeitige) Durchführung von SPECT- und PET-Untersuchungen gestattet, während der Vorteil von HiSPECT darin besteht, dass sich alle gängigen klinischen Gammakameras mit dieser Technik für SPECT-Untersuchungen an Kleintieren aber auch für hochauflösende Darstellungen menschlicher Organe und Extremitäten – etwa der Hände bei Patienten mit rheumatoider Arthritis (Hoppin et al., 2005) - aufrüsten lassen.

Kameras mit Parallellochkollimatoren erreichen eine rekonstruierte tomographische Ortsauflösung zwischen 1 und 3.5 mm FWHM und Sensitivitäten zwischen 20 und 100 cps/MBq, während dedizierte Kleintier-SPECT- Systeme (s. Tab. II im Anhang) auf Single-Pinhole-Basis ebenfalls Ortsauflösungen um 1 mm, jedoch Sensitivitäten bis zu 800 cps/MBq erreichen. Die Aufrüstung klinischer Kameras (~ 8 mm FWHM) mit Pinhole-Kollimatoren führt zu einer Verbesserung der Ortsauflösung um nahezu eine Größenordnung. Für Single-Pinhole-

Kollimation liegt die rekonstruierte räumliche Auflösung in Abhängigkeit von der Größe des Pinholes zwischen 0.8 (Lochdurchmesser: 0.5 mm) und 3.7 mm FWHM (Lochdurchmesser: 3 mm). Die Sensitivität erreicht bei einem Lochdurchmesser von 0.5 mm und einem Rotationsradius von 30 mm 130 cps/MBq. Von drei Arbeitsgruppen wurde statt der Punktsensitivität die volumetrische Sensitivität bestimmt; diese wurde für den gleichen Lochdurchmesser und bei gleichem Rotationsradius mit 340 cps/MBq/ml angegeben (s. Tab. III im Anhang). Bei Multipinhole-Kollimation wird unter Verwendung einer 7-Loch-Apertur (Lochdurchmesser: 1 mm) eine Ortsauflösung von bis zu 0.9 mm FWHM erreicht (Wirrwar et al., 2003). Der Einsatz von Multipinhole-Kollimatoren erhöht die Sensitivität gegenüber der Single-Pinhole-Technik um eine Größenordnung.

Für die Vergleichbarkeit der einzelnen Systeme gilt Ähnliches wie für die PET. Auch hier weichen die Konfigurationen der SPECT-Kameras stark voneinander ab: so stehen nicht nur dedizierte neben aufgerüsteten konventionellen Scannern, sondern auch Scanner mit Detektorringen neben Scannern mit ein oder zwei stationären oder rotierenden Detektoren, und Scanner mit einzelnen neben Scannern mit mehreren Single-Pinhole- oder Multipinhole-Kollimatoren. Auflösung und Sensitivität wurden auch hier von den einzelnen Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Phantomen, mit Pinholes unterschiedlicher Durchmesser und in unterschiedlichen Abständen zwischen Objekt und Kollimator- bzw. Detektoroberfläche gemessen. Insgesamt unterstreicht die mangelnde Vergleichbarkeit der Performance-Charakteristika bei Kleintier-PET wie –SPECT die Forderung nach der Einführung verbindlicher Standards.

Verbesserungen der Pinhole-/Multipinhole-Methode zielen bei den einzelnen Arbeitsgruppen gegenwärtig auf die Aufrüstung weiterer Detektorköpfe mit Pinhole-Kollimatoren, wie sie von Acton (Acton et al., 2002a,b) oder Ishizu und Mitarbeitern (Ishizu et al., 1995) bereits für die Dreikopf-Prism 3000XP und für die Vierkopf-Hitachi 2000H vorgenommen wurde. Eine weitere Bestrebung geht dahin, Multipinhole-Aperturen für bestimmte Anwendungen durch die Erhöhung der Anzahl der Löcher und durch deren besondere Anordnung zu optimieren (Meikle et al., 2001, 2002, Schramm et al., 2003); so ermöglichen weitere Löcher infolge der höheren Sensitivität entweder eine schnellere Datenakquisition oder die Applikation kleinerer Radioaktivitätsmengen bei gleichbleibender Bildqualität. Durch spezifische Lochanordnungen kann überdies die Ausnutzung der Detektoroberfläche für die

Vergrößerung des abgebildeten Objektes verbessert werden. Zudem kann durch die Anordnung der Löcher und durch deren Ausrichtung der besonderen Geometrie eines Objektes Rechnung getragen werden. Die Multipinhole-Technik ist im übrigen auch die Grundlage des Translation(T)-SPECTs, eines Systems, bei dem statt einer Rotation der Kamera oder des Versuchstieres die bloße Verschiebung des Objektes innerhalb des FOVs eines oder mehrerer stationärer Detektoren vorgesehen ist (Lackas et al., 2005).

Ein weiterer Ansatz besteht in der Entwicklung integrierter multimodaler bildgebender Systeme. Solche Systeme sind A-/X- (Iwata et al., 2001) und NanoSPECT (www.bioscan.com). Weiterhin wurde im Jefferson Lab ein Kleintier-SPECT-CT entwickelt, das aus drei rotierfähigen Detektorköpfen besteht (Weisenberger et al., 2003); zwei davon sind Gammakameramodule, die für die Bildgebung mit ^{125}I -markierten Radiotracer optimiert wurden (29 x 29 CsI(Tl)-Kristallelemente, ein PS-PMT pro Detektor, LEHR-Parallellochkollimator), während der dritte aus einem kleinen, fluoroskopischen Röntgensystem der Firma LIXI Inc. (Huntley, USA) besteht. Ein weiteres System wurde von der Nuklearmedizinischen Abteilung der Universität von Tucson, Arizona, konzipiert und besteht aus einem Halbleiterdetektor (64 x 64 pixellierte CdZnTe-Kristalle, ASICs-Auslesung, LEHR-Parallellochkollimator) und einer CCD-basierten Röntgenkamera (Kastis et al., 2004). In Zusammenarbeit zwischen dem Krebsforschungszentrum Heidelberg und der Thomas Jefferson National Accelerator Facility (Newport News, USA) wurde ferner ein bildgebendes System entwickelt, das die Koregistrierung von SPECT- und Fluoreszenzbildern ermöglicht und auf einer Gamma- (66 x 66 NaI(Tl)-Kristallelemente, 2 x 2 PS-PMTs, Pinhole-Kollimator) und einer CCD-Kamera basiert (persönliche Mitteilung von Dr. J. Peter). Weitere Informationen zu diesem System sind in Kürze verfügbar.

1.2.1.3. Methodische Aspekte der Kleintiertomographie

1.2.1.3.1. Untersuchungsgebiete der dedizierten Kleintiertomographie

Einen wichtigen Stellenwert bei der Kleintiertomographie nimmt die Validierung einer Kamera für bestimmte Fragestellungen ein. Diese Validierung erfolgt in der Regel zuerst mit

Phantommessungen, wobei von den im Anhang beschriebenen PET-Kameras Donner600-Crystal-Tomograph (Derenzo et al., 1987), VUB-PET (Tavernier et al., 1992), ANIPET (Zhang et al., 2002) sowie die Kamera des Hospital GU Gregorio Maranon (Ortuño et al., 2003, Vaquero et al., 2004) bislang nicht über dieses Stadium hinaus gekommen sind. Mit den Kameras des National Institute of Radiological Sciences, Chiba-shi (Tomitani et al., 1985), des National Institute of Health, Bethesda (Siegel et al., 1999), und des Massachusetts General Hospital (Correia et al., 1999) sowie mit QPET (McKee et al., 1994), YAP-(S)PET (Del Guerra et al., 1998, www.ise-srl.com), IndyPET-I (Rouze et al., 1999) und ClearPET (Ziemons et al., 2004, www.raytest.de) wurden im Zuge der Systemevaluierung auch bildgebende Untersuchungen an einem oder mehreren Versuchstieren durchgeführt. Dabei erfolgte die Darstellung des zerebralen oder kardialen Glucosemetabolismus' mit [^{18}F]FDG bei Maus (Siegel et al., 1999), Ratte (Correia et al., 1999, www.ise-srl.com, www.raytest.de) und Primat (Watanabe et al., 1997) sowie die Darstellung des Knochenstoffwechsels mit ^{18}F bei Maus (Siegel et al., 1999) und Ratte (McKee et al., 1994). Darüberhinaus wurden die Benzodiazepin-Rezeptoren bei der Ratte mit den Radioliganden [^{11}C]Ethyl-8-fluoro-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo[1,5a]-[1,4]benzodiazepin-3-carboxylat ([^{11}C]Ro15-1788; Tomitani et al., 1984) und [^{11}C]Flumazenil (www.ise-srl.com) dargestellt.

Unter den SPECT-Kameras ist das CoALA-SPECT (Meikle et al., 2003) bislang nicht über das Stadium der Simulationen und/oder Phantommessungen hinaus gekommen. Mit den meisten anderen der hier vorgestellten Kamerasysteme wurden Machbarkeitsstudien an wenigstens einem Versuchstier durchgeführt (Strand et al., 1993, Jaszcak et al., 1994, Ogawa et al., 1998, Wu et al., 2000, Habraken et al., 2001, Loudos et al., 2003, Schurrat et al., 2003, Scherer et al., 2004, Zeniya et al., 1994, Wirrwar et al., 2004, Beekman et al., 2005, www.gammamedica.com, www.bioscan.com).

Einen wichtigen Stellenwert bei der Kleintiertomographie nimmt die *in vivo* Validierung neuer Radioliganden für bestimmte Fragestellungen ein (z. B. TierPET, Bauer et al., 2003, 2005). Auf diesen Aspekt der *in vivo* Untersuchungen soll in dieser Arbeit nicht näher eingegangen werden. Wir betrachten im Folgenden ausschließlich das Spektrum der systematischen *in vivo* Untersuchungen inhaltlich orientierter Fragestellungen, die bis dato mit neun dedizierten Kleintier-PET- (PCR-I, Hamamatsu SHR-2000, Hamamatsu SHR-7700, RATPET, Sherbrooke APD-PET, HIDAC, MicroPET/MicroPET® R4, ATLAS, IndyPET II; s.

Tab. I im Anhang) und sieben dedizierten oder aufgerüsteten Kleintier-SPECT-Kameras (FASTSPECT, A-SPECT, EKG-getriggertes Pinhole-SPECT, Hochauflösendes Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam, Prism 3000XP, Hitachi 2000H, Siemens Orbiter ZLC 3700; s. Tab. II und III im Anhang) durchgeführt wurden.

Schwerpunkte der Kleintier-PET-Studien sind Tumorerkrankungen (Wu et al., 2000, Iyer et al., 2002, Ugur et al., 2002, Lewis et al., 2002, Li et al., 2002, Zheng et al., 2002, 2004a,b, Oyama et al., 2002, 2004, Palm et al., 2003, Chen et al., 2004a, b, c, Zanzonico et al., 2004), Knochenläsionen (Berger et al., 2002), die Glykogenspeicherkrankheit vom Typ I (Zingone et al., 2002) sowie Erkrankungen des kardiovaskulären Systems (Ouchi et al., 1996, 1998, Brownell et al., 1999, Choi et al., 1997, Yamamoto et al., 2000, Kudo et al., 2002, Johnstrom et al., 2002, Croteau et al., 2003, Inubushi et al., 2004). Hinzu kommt die Untersuchung von Reportergenexpression (Gambhir et al., 1998, Iyer et al., 2001, Liang et al., 2002, Wu et al., 2002, Inubushi et al., 2003, Dubey et al., 2003, Yang et al., 2003, Ray et al., 2003, Mayer-Kuckuk et al., 2003, Luker et al., 2003, Rogers et al., 2003, Sundaresan et al., 2004, Chen et al., 2004) und genetischen Knock-out-Modellen (Thanos et al., 2002). Zahlreich sind weiterhin Untersuchungen des Glucosestoffwechsels, der Durchblutung und des DAergen, cholinergen und 5-HTergen Systems bei der Modellierung unterschiedlicher Aspekte von Verstärkung, Lernen und Gedächtnis (Ouchi et al., 1996a,b, 1998, 1999, Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998), Morbus Parkinson (Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, 1998, Hume et al., 1996, Chen et al., 1997, 1999, Brownell et al., 1998, Sullivan et al., 1998, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Cicchetti et al., 2002, Björklund et al., 2002, Inaji et al., 2005), Morbus Huntington (Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997, Araujo et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b), Depression (Hirani et al., 2000, 2003, Hume et al., 2001), ADHS (Schiffer et al., 2006), Manie (Le Masurier et al., 2004), Epilepsie (Kornblum et al., 2000), Gehirntrauma (Moore et al., 2000, Mir et al., 2004) sowie Seneszenz und Morbus Alzheimer (Hayashi et al., 1999, Ogawa et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Umegaki et al., 2002, Kawamura et al., 2002).

Mit dedizierten Kleintier-SPECT-Kameras erfolgte bislang die systematische Untersuchung von Tumoren (Liu et al., 2004a, Marsee et al., 2004, Mandl et al., 2004, Oh et al., 2004), Myokardperfusion und Myokardglucosemetabolismus (Liu et al., 2002, 2004b, Wu et al., 2003) bei Ratte und Maus. Mit aufgerüsteten klinischen Scannern wurde neben der Größe von Infarktarealen (Hirai et al., 2000) auch der Fettsäuremetabolismus (Hirai et al., 2001, Chen et al.,

2001) sowie die Angiogenese und die ventrikuläre Funktion (Iwakura et al., 2003) bei Ratteninfarkt- und transienten Ischämie-Modellen untersucht. Hinzu kommt die DAT- (Acton et al., 2002a, Scherfler et al., 2002, Saji et al., 2003) und D₂-Rezeptorbindung (Acton et al., 2002b, Saji et al., 2003, Scherfler et al., 2005; Sohlberg et al., 2005) bei Ratte, Maus und nicht-humanen Primaten.

Im Mittelpunkt der meisten PET- (Torres et al., 1995, Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, 1998, Hume et al., 1996, Tsukada et al., 1996, Ogawa et al., 1996, 2000, Fricker et al., 1997, Unterwald et al., 1997, Chen et al., 1997, 1999, Maggos et al., 1998, Katsumi et al., 1999, Brownell et al., 1998, Sullivan et al., 1998, Nguyen et al., 2000, Araujo et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Cicchetti et al., 2002, Björklund et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a,b, Umegaki et al., 2002, Kawamura et al., 2003, Le Masurier et al., 2004, Inaji et al., 2005, Schiffer et al., 2006) und SPECT-Untersuchungen (Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, 2005, Sohlberg et al., 2005) mit dedizierten oder aufgerüsteten Tomographen stehen Untersuchungen der DA-Rezeptor- und DAT-Bindung im Neostriatum der Ratte. Diese sollen im Folgenden eingehend betrachtet werden. Dabei unterliegt die *in vivo* Messung von Rezeptor- oder Transporterbindung in kleinen Regionen einer Vielzahl von methodischen Beschränkungen, die zuvor im Einzelnen diskutiert werden.

1.2.1.3.2. Radiotracer-Verfügbarkeit und Performance-Charakteristika der Kamera

Ein wichtiger Faktor für die Durchführbarkeit einer *in vivo* Studie mit Kleintier-PET ist die Verfügbarkeit des Radiotracers. So muss die Radiomarkierung der Spürsubstanz mit einem positronenemittierenden Isotop möglich sein. Da PET-Radionuklide kurzlebig sind - die Halbwertszeiten der am häufigsten verwendeten Nuklide ¹¹C und ¹⁸F betragen 20.3 beziehungsweise 109.7 Minuten - muss überdies ein Zyklotron vorhanden sein. Dieses Problem existiert bei SPECT-Untersuchungen nicht, da SPECT-Radionuklide langlebiger sind: so haben die am häufigsten verwendeten Radionuklide ^{99m}Tc und ¹²³I Halbwertszeiten von 6 beziehungsweise 13.2 Stunden. Infolgedessen müssen die Radiotracer nicht unmittelbar vor Ort synthetisiert werden, sondern werden entweder - wie ¹²³I-markierte Rezeptor- oder Transporterliganden - von radiopharmazeutischen Firmen angeliefert oder können - wie ^{99m}Tc-markierte Substanzen - auf einfache Weise selbst hergestellt werden, indem ein handelsübliches Kit - etwa Diphosphonat oder Tetrofosmin - mit dem Generatorkern ^{99m}Tc zur Reaktion

gebracht werden.

Von grundlegender Bedeutung sind ferner die Performance-Charakteristika der zur Verfügung stehenden Kamera. Bei den Kleintier-PETs der ersten Generation mit einer rekonstruierten räumlichen Auflösung zwischen 2 und 4.5 mm (s. Tab. I im Anhang) muss sich die Untersuchung auf Ratten beschränken, da die Organe der Maus zu klein sind, um die Akquisition hinreichend hoher Zählraten zu gewährleisten. Mithin stehen bei Geräten wie dem RATPET (Bloomfield et al., 1995) oder dem Hamamatsu SHR2000 (Watanabe et al., 1995) hinreichend große und hinreichend stark akkumulierende Strukturen wie das Striatum der Ratte im Mittelpunkt der Aufmerksamkeit (z. B. Hume et al., 1996, Tsukada et al., 2006), während mit Kameras wie dem MicroPET (Cherry et al., 1996) oder dem dual-/quad-HIDAC (Jeavons et al., 1999) die dynamische Untersuchung kleinvolumigerer Zielregionen (z. B. Hippokampus, Myokard, kleine Läsionen) bei Ratten und sogar Mäusen möglich ist (z. B. Moore et al., 2002, Inubushi et al., 2004, Chen et al., 2004b).

Ähnliches gilt für SPECT: die mit LEHR- oder LEUHR-Kollimatoren ausgestatteten dedizierten Kleintiertomographen auf Kristalldetektorbasis wie das YAP(S)PET (Del Guerra et al., 2004) sind hinsichtlich ihrer Auflösung und ihrer Sensitivität begrenzt; wie erste Machbarkeitsstudien zeigten, schränkt dies auch hier den Anwendungsbereich auf Rattenstriatum und Rattenherz (Di Domenico et al., 2001) ein. Die Aufrüstung sowohl dedizierter Kleintier- als auch konventioneller klinischer SPECT-Kameras mit Pinhole-Kollimatoren führt zu einer Verbesserung der Ortsauflösung; infolgedessen können mit dieser Technik Strukturen von der Größe eines Mäusestriatums (Acton et al., 2002a,b) oder Mäuseherzens (Wu et al., 2003) aufgelöst werden; ebenso wird die Untersuchung muriner Tumormodelle möglich (Marsee et al., 2004, Mandl et al., 2004). Durch den Einsatz von Multipinhole-Kollimatoren können Auflösung wie Sensitivität weiterhin gesteigert werden: erste Studien an Ratten und Mäusen haben gezeigt, dass durch Aufsatz einer 7-Loch-Apertur auf einen Detektorkopf hochaufgelöste Darstellungen von Tumoren, Knochenstoffwechsel und Myokardperfusion bei Ratten wie Mäusen möglich sind (Schurra et al., 2003, Wirrwar et al., 2004, Scherer et al., 2005).

Dynamische Aufnahmen im strengen Sinne können mit den wenigsten SPECT-Systemen durchgeführt werden. Ausnahmen sind Kameras wie FASTSPECT und YAP-(S)PET, die über ringförmig angeordnete Detektoren beziehungsweise PET-Technologie verfügen und mehrköpfige klinische Scanner, bei denen die gleichzeitige Aufnahme mehrerer Projektionen

möglich ist. Ist die Sensitivität der Kamerasysteme hoch, und erlaubt die Mechanik entweder die schnelle Rotation des Tieres oder des Detektorkopfes, können mit verhältnismäßig kurzen Messzeiten (≈ 20 sec) pro Projektion quasi-dynamische Messungen durchgeführt werden. In Abhängigkeit von der Kinetik des verwendeten Tracers kann diese „Dynamik“ bei bestimmten Fragestellungen für die grobe Erfassung derselben ausreichend sein. Einen Fortschritt bedeutet auch hier möglicherweise die Multipinhole-Technik: wird eine Dreikopfkamera mit drei fokussierenden 12- bis 15-Loch-Kollimatoren aufgerüstet, liefert bereits eine Gantry-Position genügend Winkelinformation für eine komplette tomographische Rekonstruktion, so dass unter diesen Umständen auf eine zeitraubende Rotation der Detektoren verzichtet werden kann. Ein solcher Ansatz wird derzeit von Wirrwar und Mitarbeitern zur Durchführung von dynamischen SPECT-Studien am Rattenhirn evaluiert.

Die Sensitivität eines Kamerasystems steht in engem Zusammenhang mit der spezifischen Aktivität der radiomarkierten Substanz. Zum Zeitpunkt der Applikation liegt die spezifische Aktivität bei PET-Radioliganden in einer Größenordnung von 100 MBq/nmol (Hume et al., 1998). Ist die Sensitivität einer Kamera niedrig, müssen hohe Radioaktivitätsdosen appliziert werden, um eine für die Rekonstruktion kleiner Volumina hinreichende Zählstatistik zu erreichen. Hohe Radioaktivitätsdosen sind jedoch gewöhnlich mit großen Mengen nicht-markierter Substanz assoziiert. Dies verletzt das „Tracer-Prinzip“, ein Begriff, der die Voraussetzung für die Durchführung von *in vivo* Studien bezeichnet, nach der die Menge des injizierten Radiopharmazeutikums so niedrig bemessen sein sollte, dass keinerlei Störungen des zu messenden biologischen Systems induziert werden können. Folglich muss der Scanner bei Verwendung eines Radiotracers mit niedriger spezifischer Aktivität eine hinreichend hohe Sensitivität aufweisen, da in diesem Falle die Verabreichung niedrigerer Radioaktivitätsdosen möglich ist. Bei SPECT-Tracern ist die spezifische Aktivität in der Regel wesentlich höher. Sie übersteigt bei mit ^{123}I -markierten Radioliganden [^{123}I]IBZM und [^{123}I]FP-CIT 74 TBq/mmol beziehungsweise 25 GBq/mmol.

1.2.1.3.3. Partialvolumen und Spill-over

Der Partialvolumeneffekt ist ein nicht-lineares Artefakt, das zu einer Unterschätzung der Radioaktivitätskonzentrationen führt, falls die Objektgröße die zweifache FWHM der Kamera unterschreitet. Bei einem von Hume und Mitarbeitern durchgeführten Vergleich von mit dem RATPET (s. Tab. I im Anhang) und einem Gammazähler nach *post mortem* Dissektion bestimmten Radioaktivitätskonzentrationen ergaben sich striatozerebelläre Quotienten von 2.5 beziehungsweise 9 (Hume et al., 1996). Dabei stimmten die mit PET und Gammazähler bestimmten zerebellären Zählraten überein, während die mit PET gemessenen striatalen Zählraten die mit dem Gammazähler ermittelten auf Grund der Kleinheit dieser Region unterschritten.

Ishiwata und Mitarbeiter untersuchten die Bindungskinetik verschiedener D₂-Rezeptorliganden im Striatum der Ratte mit dem Hamamatsu SHR2000 (s. Tab. I im Anhang); hierbei betrugen die mit PET ermittelten striatozerebellären Quotienten die Hälfte der nach *post mortem* Dissektion im Bohrloch gemessenen Werte (Ishiwata et al., 1999). In einer nachfolgenden Studie setzten Ishiwata und Mitarbeiter die Radioaktivitätsakkumulation in lädiertem und intaktem Striatum zueinander ins Verhältnis und verglichen die mit PET erhaltenen Werte mit *ex vivo* und *in vitro* Autoradiographien (Ishiwata et al., 2002). Hierbei war die *ex vivo* und *in vitro* bestimmte Adenosin A_{2A}-Rezeptorbindung gegenüber den *in vivo* erzielten Ergebnissen um 28 beziehungsweise 53% erniedrigt. Für D₁- und D₂-Rezeptorbindung ergaben sich Reduktionen um 53 beziehungsweise 67 (*in vivo* vs *ex vivo*) und 17 beziehungsweise 43% (*in vivo* vs *in vitro*). Ähnliche Befunde erbrachten Kawamura und Mitarbeiter (Kawamura et al., 2003): bei ihrem Vergleich von *in vivo* mit dem Hamamatsu SHR2000 und nach *post mortem* Dissektion im Bohrloch gemessenen striatalen Radioaktivitätskonzentrationen betrugen die mit PET ermittelten Werte nur 65 bis 75% der *post mortem* bestimmten.

Im Rahmen ihrer Bestrebungen zur Implementierung einer Partialvolumenkorrektur führten Ishiwata und Mitarbeiter eine Studie mit drei Phantomen durch, deren erstes das Striatum, deren zweites das Zerebellum und deren drittes das von Kortex umgebene Striatum vorstellen sollte (Ishiwata et al., 2002). Die Recovery in den 25 und 60 mm² großen Zielregionen („regions of interest“, ROIs), die auf den Bildern des Striatum- und Kleinhirn-Phantoms definiert wurden, lag bei 45 beziehungsweise 44 %, während die Recovery in der 25 mm² großen ROI des

Striatum-Kortex-Phantoms deutlich erhöht war. Nach Angabe von Ishiwata und Mitarbeitern bestand ein weiteres Problem darin, dass die striatokortikalen Quotienten in Abhängigkeit von den applizierten Radioliganden (Adenosin A_{2A} : [^{11}C]-{[7-Methyl-](E)-8-(3, 4, 5-trimethoxystyryl)-1,3,7-trimethylxanthin} ([^{11}C]KF18446)}, D_{1A} : [^{11}C]SCH23390, D_2 : [^{11}C]Racloprid) variierten und sich zudem zeitabhängig veränderten; aufgrund dieser Schwierigkeiten verzichteten sie schließlich auf die Implementierung einer Partialvolumenkorrektur.

Die Größe des Partialvolumeneffektes steht in umgekehrtem Verhältnis zur Größe der Zielregion; Suzuki und Mitarbeiter untersuchten den Einfluss unterschiedlich großer Partialvolumeneffekte auf die gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen, indem sie die striatale Rezeptorbindung sechs und 24 Monate alter Ratten verglichen (Suzuki et al., 2001). Die Größe des Striatums unterschied sich lediglich geringfügig zwischen den Altersgruppen; mithin variiert die Recovery bei Tieren unterschiedlichen Alters in nur geringem Ausmaß, wodurch die Partialvolumeneffekte bei einem Vergleich der Rezeptorbindung über verschiedene Altersgruppen vernachlässigbar werden.

Ein weiteres Problem bei der Quantifizierung regionaler Radioaktivitätskonzentrationen ist eine Überschätzung derselben durch Spill-over aus angrenzenden Gebieten hoher Tracer-Akkumulation. Dies betrifft gleichermaßen PET- wie SPECT-Untersuchungen. Insbesondere führt das Anreicherungsverhalten der retroorbital lokalisierten Harderschen Drüsen zu einer Überschätzung kortikaler und striataler Radioaktivitätskonzentrationen. Das Ausmaß dieses Einflusses wird dabei kontrovers diskutiert.

Bei Ratten mit und ohne fokale Gehirnschämie verglichen Kuge und Mitarbeiter lokale Glucosemetabolismusraten (LMRGlc), die mit einem klinischen PET-Scanner (ECAT EXAT HR/47, Siemens/CTI, Knoxville, USA) und mit einem Gammazähler nach *post mortem* Dissektion ermittelt wurden (Kuge et al., 1997). Nach Partialvolumenkorrektur waren die mit dem PET gemessenen frontokortikalen Radioaktivitätskonzentrationen zweimal so hoch wie die mit der *ex vivo* Methode bestimmten; dies galt sowohl für Ratten mit einem Verschluss der A. cerebri media als auch für Kontrolltiere. Wurden bei den ischämischen Ratten die LMRGlc-Werte von lädierter und intakter Hemisphäre zueinander ins Verhältnis gesetzt, ergab sich bei der *ex vivo* Methode ein signifikant erniedrigter Quotient im frontalen Kortex, sowie in Striatum, Hippokampus und Substantia nigra. Mit PET waren die Quotienten zwar auch signifikant in

Striatum, Hippokampus und Substantia nigra, jedoch nicht im frontalen Kortex erniedrigt. Aus diesem Befund folgerten die Autoren, dass infolge der Radioaktivitätsakkumulation in den Harderschen Drüsen keine Quantifizierung der kortikalen LMRGlc möglich sei. Hierbei muss jedoch bedacht werden, dass diese Studie mit einem klinischen PET-Scanner durchgeführt wurde, der eine gegenüber dedizierten Kleintiertomographen wesentlich erniedrigte Ortsauflösung aufweist. Fukuyama und Mitarbeiter untersuchten den Einfluss der Harderschen Drüsen auf die LMRGlc-Bestimmung im frontalen Kortex mit dem dedizierten Hamamatsu SHR2000 (s. Tab. I im Anhang; Fukuyama et al., 1998); die Bestimmung der frontokortikalen LMRGlc vor und nach Resektion der Harderschen Drüsen ergab hierbei eine präoperative Überschätzung der Radioaktivitätskonzentration um 6 %. In kaudaler gelegenen Regionen wie dem Parietalkortex und dem Zerebellum fand sich keinerlei Unterschied in den prä- und postoperativen LMRGlc-Werten.

1.2.1.3.4. Schwächung

Die Schwächung der Gammastrahlen auf ihrem Weg zum Szintillationsdetektor führt in Abhängigkeit von der Absorption der Gammastrahlen durch das umliegende Gewebe zu einer Unterschätzung der regionalen Radioaktivitätskonzentrationen. Alexoff und Mitarbeiter beobachteten dabei in den tieferen Gehirnstrukturen eine absolute Schwächung um bis zu 20% (Alexoff et al., 2003).

Die Mehrzahl der mit dem Hamamatsu SHR-2000 und dem PCR-I (s. Tab. I im Anhang) durchgeführten Kleintier-PET-Studien führten Schwächungskorrekturen auf der Grundlage von Transmissionsmessungen durch (Brownell et al., 1989, Chen et al., 1997, Cichetti et al., 2002, Hayashi et al., 1999, Ishiwata et al., 2002a,b, Katsumi et al., 1999, Kawamura et al., 2002, Nguyen et al., 2000, Ogawa et al., 2000, Ouchi et al., 1996a,b, 1998, 1999, Suzuki et al., 2001, Umegaki et al., 2002, Yamamoto et al., 2000). Das Gleiche gilt für die von Inaji und Mitarbeitern durchgeführte Studie mit dem Hamamatsu SHR-7700 (s. Tab. I im Anhang; Inaji et al., 2005). Überdies wurde von Moore und Mitarbeitern in ihrer mit dem MicroPET (s. Tab. I im Anhang) durchgeführten Untersuchung erstmalig eine rechnerische Methode der Schwächungskorrektur implementiert (Moore et al., 2000). In keiner der mit dem RATPET und dem dual-HIDAC (s. Tab. I im Anhang) durchgeführten Untersuchungen wurde eine Schwächungskorrektur vorgenommen. Auch bei den mit FASTSPECT, A-SPECT, EKG-getriggertem Pinhole-SPECT

und den Pinhole-SPECTs der Universitäten von Innsbruck, Amsterdam und Kuopio (s. Tab. II und III im Anhang) durchgeführten Untersuchungen fehlt jede Schwächungskorrektur.

Infolge dieser uneinheitlichen Vorgehensweise können die in den einzelnen Studien ermittelten absoluten Radioaktivitätskonzentrationen nicht miteinander verglichen werden. Andererseits ist die Unterschätzung der Radioaktivitätskonzentrationen durch Schwächung auf Grund der geringen Dicke der absorbierenden Strukturen - im wesentlichen Muskeln und Knochen - im Vergleich zum Partialvolumeneffekt vernachlässigbar. So ergab die von Meyers und Mitarbeitern für das RATPET (s. Tab. I im Anhang) durchgeführte Bestimmung der Schwächungskorrekturfaktoren die nämlichen Werte – nämlich eine Schwächung um 16 % - für Striatum und Kleinhirn (Meyers et al., 1996).

1.2.1.3.5. Rekonstruktion

Einige der früheren PET-Systeme (Tomitani et al., 1985, Derenzo et al., 1987, Brownell et al., 1989, Watanabe et al., 1992, Lecomte et al., 1994) und die HIDAC-Kameras der ersten und zweiten Generation (Jeavons et al., 1999, Missimer et al., 2004) wurden für die Anwendung im 2D-Modus konstruiert (s. Tab. I im Anhang). Dies wird – wie oben erwähnt - durch Kollimierung der Detektoren mit Blei- oder Wolfram-Zwischensepten erreicht. Sind diese wie beim Hamamatsu SHR-7700 (Watanabe et al., 1997) einziehbar, ist die Datenakquisition in 2D- wie auch 3D-Modus möglich (s. Tab. I im Anhang). Die meisten neueren PET-Kameras (s. Tab. I im Anhang) arbeiten im 3D-Modus (Tavernier et al., 1992, Mac Kee et al., 1994, Bloomfield et al., 1995, Cherry et al., 1996, Weber et al., 1997, Del Guerra et al., 1998, Siegel et al., 1998, Correia et al., 1999, Rouze et al., 1999, Rouze & Hutchins, 2003, Tai et al., 2001, Ziegler et al., 2001, Zhang et al., 2002, Seidel et al., 2003, Surti et al., 2003, Vaquero et al., 2004, Ziemons et al., 2004).

Die Rekonstruktion erfolgt in 2D oder 3D; verwendet werden gefilterte Rückprojektion (FBP; Derenzo et al., 1987, Brownell et al., 1989, Tavernier et al., 1992, Watanabe et al., 1992, 1997, Mc Kee et al., 1994, Lecomte et al., 1994, Bloomfield et al., 1995, Cherry et al., 1996, Del Guerra et al., 1998, Correia et al., 1999, Siegel et al., 1999, Jeavons et al., 1999, Tai et al., 2001, Zhang et al., 2002, Vaquero et al., 2004, Missimer et al., 2004) sowie iterative OSEM (Jeavons et al., 1999, Seidel et al., 2003), Maximum-Likelihood-Expectation-Maximization (MLEM) - (Ziemons et al., 2004), Row-Action-Maximum-Likelihood (RAMLA)- (Surti et al., 2003),

Penalized-Weighted-Least-Squares (PWLS)- (Ziegler et al., 2001) und Bayes-Algorithmen (Rouze et al., 1999, Rouze & Hutchins, 2003; s. Tab. I im Anhang).

Bei den mit dedizierten Kleintier-SPECTs durchgeführten Untersuchungen erfolgt die Rekonstruktion mit FBP (Wu et al., 1999, Habraken et al., 2001), OSEM- (www.gammamedica.com, Zeniya et al., 2004), MLEM- (Klein et al., 1995, Kastis et al., 2000, Del Guerra et al., 2000, MacDonald et al., 2001, Taylor et al., 2004) oder Bayes' Median-Root-Prior (MRP)-Algorithmus (Sohlberg et al., 2004; s. Tab. II im Anhang). Bei den mit einzelnen oder multiplen Pinhole-Kollimatoren aufgerüsteten Scannern wird in den meisten Fällen mit FBP rekonstruiert (Strand et al., 1993, Jaczak et al., 1994, Ishizu et al., 1995, Yukihiro et al., 1996, Ogawa et al., 1998, Scherfler et al., 2002). Daneben finden jedoch auch in zunehmendem Maße iterative Verfahren (MLEM: Jaczak et al., 1994, Wirwar et al., 2003, Schramm et al., 2003, Cone-beam Iterative Simultaneous Algebraic Reconstruction Technique [SART]: Acton et al., 2002a) Verwendung (s. Tab. III im Anhang). Diese haben gegenüber der FBP den Vorteil, dass ein exakteres Projektionsmodell angenommen wird. Überdies kann auch einer nicht-uniformen Schwächung Rechnung getragen werden und Streifenartefakte und Hintergrundrauschen werden reduziert. Der wesentliche Nachteil ist die Langsamkeit des Verfahrens, die ihre Ursache in den multiplen Iterationen hat. Überdies können sich Hotspots zeigen, wenn Projektionen abgeschnitten werden.

Für das MicroPET (s. Tab. I im Anhang) wurde der Einfluss des gewählten Rekonstruktionsalgorithmus - FBP versus iterativer Maximum - *a posteriori* - Probability (MAP)-Algorithmus - auf die räumliche Auflösung untersucht (Chatziioannou et al., 2001). Phantomstudien zeigten eine verbesserte Recovery bekannter Radioaktivitätskonzentrationen bei Verwendung des MAP-Algorithmus': entsprechend konnten mit der MAP-Rekonstruktion feinere Details aufgelöst werden, ohne dass es zu einem im Vergleich mit der FBP erhöhtem Signal-zu-Rausch-Verhältnis kam. Die mit PET gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen wurden mit den autoradiographisch oder mittels Bohrloch erzielten Messergebnissen verglichen und zeigten eine im Vergleich zur FBP erhöhte Messgenauigkeit.

Frese und Mitarbeiter verglichen FBP, MLEM und Rekonstruktion mit Bayesschen Algorithmen für den IndyPET-Scanner (Frese et al., 2003; s. Tab. I im Anhang). Um eine höhere Recovery zu erreichen, wurde in die Vorwärtsmodelle von MLEM- und Bayes-Algorithmus ein empirisches System-Kernel implementiert, das auf der Grundlage von Linienphantommessungen

bestimmt wurde. Ohne die Verwendung der Point-Spread-Funktion lieferten FBP, MLEM- und Bayes-Rekonstruktion ähnliche Ergebnisse. Implementierung derselben führte jedoch zu einer besseren Bildqualität und zu einer erhöhten quantitativen Genauigkeit bei der Verwendung der iterativen Rekonstruktionsalgorithmen. Dabei war das Bayes-Verfahren überdies dem MLEM-Algorithmus überlegen.

Für die anderen dedizierten Kleintierkameras wurden bislang keine ähnlichen Vergleiche der verschiedenen Rekonstruktionsalgorithmen hinsichtlich der Quantifizierungsgenauigkeit durchgeführt. Aus den Ergebnissen der von Kornblum und Mitarbeitern mit dem MicroPET (s. Tab. I im Anhang) durchgeführten Studie zur neuronalen Aktivierung und Plastizität kann jedoch geschlossen werden, dass die Verwendung iterativer Algorithmen insbesondere bei der Untersuchung kleinvolumiger Strukturen von Vorteil ist (Kornblum et al., 2000).

1.2.1.3.6. Anatomische Orientierung

Für die Lokalisation von Organen und Läsionen wird in zunehmendem Maße multimodale Bildregistrierung eingesetzt (Slomka, 2004). Dabei werden funktionale PET- und SPECT- mit morphologischen CT- oder magnetresonanztomographischer (MRT)-Bildern koregistriert (z. B. www.gammamedica.com). Hierdurch wird nicht nur die anatomische Orientierung vereinfacht, sondern auch die Quantifizierung erleichtert, da die morphologischen Bilder Daten für Partialvolumen- und Schwächungskorrektur liefern. Ist keine Koregistrierung möglich, kann die Identifikation etwa des Rattenstriatums durch Radiotracer-Akkumulation in anderen paarigen Strukturen wie den extraorbitalen Tränendrüsen oder den Harderschen Drüsen erschwert werden. Dies ist insbesondere bei der Evaluierung neuer Tracer mit bislang unbekannten Verteilungsmustern der Fall. Schwierigkeiten können überdies auftreten, wenn die Rezeptor- oder Transporterbindung unter pharmakologischer Blockade quantifiziert werden soll, da diese zu einer - allerdings beabsichtigten - Reduktion der Radioaktivitätsanreicherung in der ROI führt. Für die zuverlässige Quantifizierung des Rezeptor- oder Transporterbindungspotentials ist neben der Identifikation der Zielregion eine exakte Abgrenzung der Referenzregionen (REF) unabdingbar. Da diese *per definitionem* durch eine geringe Radioaktivitätsanreicherung gekennzeichnet sind, ist ihre Bestimmung ohne anatomische Zusatzinformation nur sehr grob möglich. Die Schwierigkeiten vergrößern sich noch, wenn regionale Radioaktivitätskonzentrationen verschiedener Tiere oder im zeitlichen Verlauf bei

denselben Tieren verglichen werden sollen. Da aufgrund fehlender stereotaktischer Koordinaten weder die für die ROI-Definition ausgewählten Schnittbilder noch die Positionen der ROIs auf denselben identisch sind, leidet die Vergleichbarkeit der quantitativen Daten.

1.2.1.3.7. Anästhesie

In den Rezeptor- und Transporteruntersuchungen, die bis *dato* mit Kleintier-PET- und – SPECT-Systemen an Ratten durchgeführt wurden, wurden Isofluran (Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, 1998, Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, 1998, 2001, Fricker et al., 1997, Sullivan et al., 1998, Ogawa et al., 2000, Hirani et al., 2000, 2003, Ishiwata et al., 2002a,b, Umegaki et al., 2002, Kawamura et al., 2003, Le Masurier et al., 2004, Scherfler et al., 2005, Inaji et al., 2005), Ketavet/Xylazin (Araujo et al., 2000, Booij et al., 2002, Schiffer et al., 2006), Chloralhydrat (Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998, Suzuki et al., 2001), Halothan (Chen et al., 1997, 1999, Brownell et al., 1998, Nguyen et al., 2000, Björklund et al., 2002, Cicchetti et al., 2002), Pentobarbital (Ouichi et al., 1998, Sohlberg et al., 2005) oder eine Mischung aus Thipental und Pentobarbital (Scherfler et al., 2002) verwendet.

Die Wahl des Sedativums beeinflusste unabhängig von der verwendeten Kamera die in der Zielregion gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen: so reduzieren Ketavet und Xylazin die spezifische Bindung des SERT-Liganden [³H](S)-Citalopram bei Ratten, während sowohl Isofluran als auch Halothan die SERT-Bindung erhöhten (Elfving et al., 2003). Hingegen wurde die spezifische Bindung des DAT-Liganden [¹²⁵I](E)-N-(3-Iodoprop-2-enyl)-2-carbomethoxy-3-(4'-methylphenyl)-nortropan ([¹²⁵I]PE2I) sowohl durch die Applikation eines Ketavet-Xylazin-Gemisches als auch durch Isofluran reduziert, während weder Zoletil noch Halothan die Radioligandenbindung beeinflussten. Onoe und Mitarbeiter beschrieben bei Affen eine Zunahme der striatalen [¹¹C]MSP-Bindung unter Ketamin-Anästhesie, während Pentobarbital eine Abnahme der [¹¹C]MSP-Bindung induzierte (Onoe et al., 1994). Ebenso beschrieben Ishiwata und Mitarbeiter eine ligandenspezifische Zunahme des striatozerebellären Quotienten unter Isofluran-Anästhesie (Ishiwata et al., 1999). Im Gegensatz hierzu wurde von Hirani und Mitarbeitern lediglich eine minimale Beeinflussung der Bindung von [¹¹C](R)-(+)-α-(2,3-dimethoxyphenyl)-1-[2-(4-fluoro-phenyl)ethyl]-4-piperidin-methanol ([¹¹C]MDL100907) an den 5-HT_{2A}-Rezeptor beschrieben (Hirani et al., 2003). Von Ma und Mitarbeitern wurde in Dissektionsexperimenten gezeigt, dass der Azetylcholinesterase-Inhibitor Phenserin sowohl bei

wachen als auch bei mit Isofluran anästhesierten Ratten eine 10%ige Reduktion der [^{11}C]N-Methylpyrrolidinybenzilat ([^{11}C]NMPYB)-Bindung induziert (Ma et al., 2004). Hingegen zeigte sich bei *in vivo* Untersuchungen mit dem MicroPET (s. Tab. I im Anhang) keine Inhibition der [^{11}C]NMPYB-Bindung im anästhesierten Tieren.

1.2.1.3.7. Quantifizierung der Rezeptor- und Transporterbindung

Modellbasierte Methoden der Quantifizierung (Abb. 3) gehen vom Begriff des „Kompartimentes“ aus, der einen physiologischen oder biochemischen Raum bezeichnet, in dem die Tracer-Konzentrationen, $C(t)$, jederzeit homogen sind. *In vitro* Radioligandenbindungsstudien umfassen zwei Kompartimente, die in derselben Küvette lokalisiert sind und zum einen die Gewebeschnitte mit den Rezeptoren, zum anderen die Pufferlösung mit dem Radioliganden bezeichnen. Das einfachste Modell (Abb. 3) für die Interaktion von Rezeptor und Radioligand wird durch die Michaelis-Menten-Gleichung



beschrieben, wobei $[L]$, $[R]$ und $[LR]$ die Konzentrationen des freien Radioliganden, der freien Rezeptoren und der Rezeptor-Liganden-Komplexe bezeichnen (Michaelis & Menten, 1913). Da diese Reaktion von Assoziations- und Dissoziationskonstante (k_{on} beziehungsweise k_{off}) bestimmt wird, gilt nach dem Gesetz der Massenwirkung im Equilibrium

$$k_{\text{on}}[L][R] = k_{\text{off}}[LR] \quad \text{Gl.(2)}$$

Da die Equilibriumsdissoziationskonstante, K_D , als $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ definiert ist und die Rezeptordichte $B_{\text{max}} = [R] + [LR]$, führt Substitution in Gl. (2) und Umformung zu

$$[L][R] = \frac{B_{\text{max}}[L]}{K_D + [L]} \quad \text{Gl. (3)}$$

Bei der Verabreichung von Tracerdosen mit $[L] \ll K_D$, erhält man das Verhältnis der gebundenen zur freien Radioligandenkonzentration durch Umformung von Gl. (3) als

$$\frac{[LR]}{[L]} = \frac{B_{\text{max}}}{K_D} \quad \text{Gl. (4)}$$

B_{max}/K_D wird als Bindungspotential (BP) bezeichnet. Trägt man $[LR]$ gegen $[L]$ auf, erhält man B_{max} und K_D aus der resultierenden Hyperbel mittels nicht-linearer Regressionsanalyse. Der Quotient $1/K_D$ ist gleich der Affinität K eines Liganden für einen Rezeptor.

In vivo bezeichnet das arterielle Gefäß, das den Radioliganden in die rezeptorreiche

Gehirnregion entlässt, das erste Kompartiment C_1 . Aus C_1 gelangt der Radioligand in das freie Gewebekompartiment C_2 . Der freie Ligand in C_2 bindet an spezifische Bindungsstellen und erreicht auf diese Weise das dritte Kompartiment C_3 . Die meisten Radioliganden zeigen überdies eine nicht-spezifische Bindung. Gemeinhin wird angenommen, dass sich das Equilibrium zwischen C_2 und dem nicht-spezifischen Kompartiment C_2' schneller als das Equilibrium zwischen C_2 und C_3 einstellt, werden C_2 and C_2' im Allgemeinen in einem Kompartiment zusammengefasst. Das Ergebnis ist eine Drei-Kompartiment-Konfiguration (Abb. 3). In diesem Modell wird der Radioligandenaustausch zwischen den Kompartimenten durch vier Ratenkonstanten K_1 bis k_4 beschrieben. Betrachtet man C_2 and C_2' als getrennte Kompartimente, erhält man eine Vier-Kompartiment-Konfiguration (Abb. 3) mit sechs Ratenkonstanten K_1 bis k_6 . Das System kann durch folgenden Satz von Differentialgleichungen beschrieben werden:

$$\frac{dC_3(t)}{dt} = k_3 C_2(t) - k_4 C_3(t) \quad \text{Gl. (5)}$$

$$\frac{dC_2(t)}{dt} = K_1 C_1(t) - k_2 C_2(t) - k_3 C_2(t) + k_4 C_3(t) \quad \text{Gl. (6)}$$

$$\frac{dC_2'(t)}{dt} = K_1' C_1(t) - k_2' C_2'(t) \quad \text{Gl. (7)}$$

Liegt ein Equilibrium vor, wird die linke Seite in Gl. (5), (6) und (7) gleich Null, da kein Nettotransfer zwischen den Kompartimenten erfolgt. Aus Gl. (5) folgt damit:

$$\frac{C_3}{C_2} = \frac{k_3}{k_4} \quad \text{Gl. (8)}$$

das BP im direkten kinetischen Modell bezeichnet (Mintun et al., 1984). Die Lösung von Gl. (5), (6) und (7) ergibt sich als

$$C_{ROI}(t) = \sum_{i=1}^m A_i \exp(-a_i t) \otimes C_1(t) \quad \text{Gl. (9)}$$

Gl. (9) wird mittels nicht-linearer Regressionsanalyse den Zeitaktivitätsdaten in der ROI angepasst. Für das Zwei-Kompartiment-Modell ist $A_1=K_1'$ und $\alpha_1=k_2'$. Für das Drei-Kompartiment-Modell

$$\text{ist} \quad A_1 = K_1 \frac{a_1 - k_3 - k_4}{a_1 - a_2}, \quad A_2 = K_1 \frac{k_3 + k_4 - a_2}{a_1 - a_2} \quad \text{und}$$

$$a_{1,2} = \frac{1}{2} [k_2 + k_3 + k_4 \pm \sqrt{(k_2 + k_3 + k_4)^2 - 4k_2 k_4}].$$

Eine Voraussetzung für die genaue Bestimmung von BP mit dieser Methode ist die

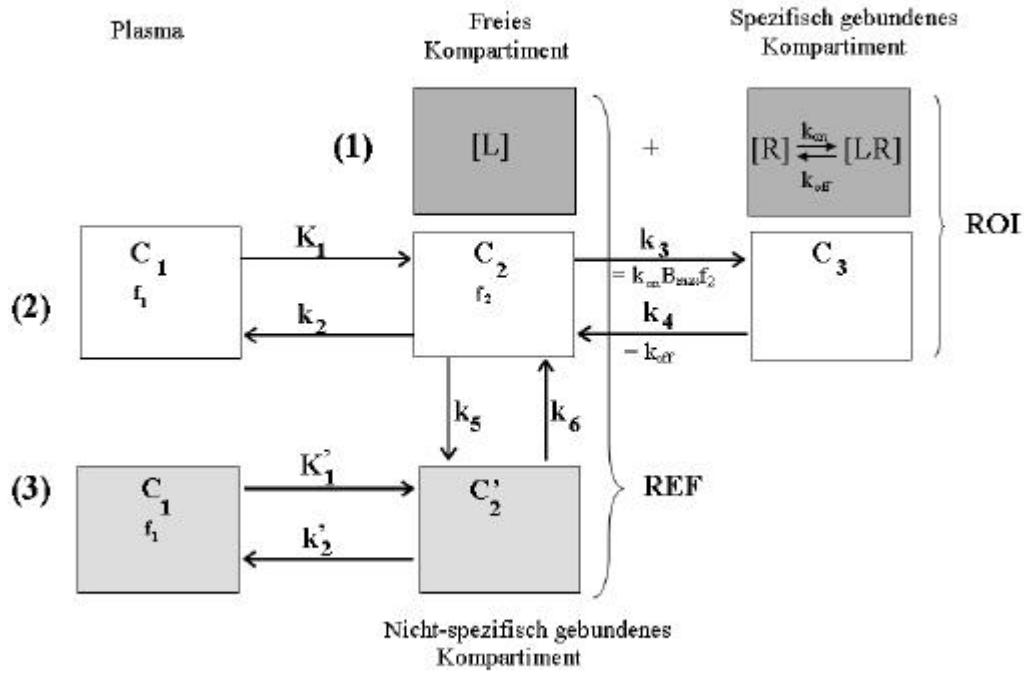


Abb. 3. Zwei- (■, ■), Drei- (□) und Vier-Kompartiment-Konfiguration (□ plus ■); (1) *In vitro* Zwei-Kompartiment-System. Die Kompartimente sind in derselben Küvette lokalisiert und bestehen aus dem Puffer mit dem gelösten Liganden und aus den Gewebeschnitten mit den Rezeptormolekülen. (2) Drei-Kompartiment-Konfiguration bestehend aus arteriellem Blut (C₁), freiem Kompartiment (C₂) und Rezeptorkompartiment (C₃), (3) Zwei-Kompartiment-Konfiguration bestehend aus C₁ und dem nicht-spezifischen Kompartiment (C'₂). Im Drei-Kompartiment-Modell sind C'₂ und C₂ gepoolt, während im Vier-Kompartiment-Modell angenommen wird, dass zwischen C'₂ und C₂ ein Austausch besteht. *Definition der Terme (in alphabetischer Reihenfolge):* B_{max}; Rezeptorkonzentration (mol/g), C₁; Plasmaaktivität des unmetabolisierten Radioliganden (Bq/ml), C₂; Radioligandenaktivität im freien Kompartiment (Bq/ml), C'₂; Radioligandenaktivität im nicht-spezifisch gebundenen Kompartiment (Bq/ml), C₃; Radioligandenaktivität im gebundenen Kompartiment (Bq/ml), f₁; freie Fraktion des unmetabolisierten Radioliganden im Plasma, f₂; freie Fraktion des Radioliganden in C₂, K_D; Equilibriumsdissoziationskonstante mit K_D = k_{off}/k_{on}, k_{on}, k_{off}; Assoziations- [(g/ml x min)⁻¹] und Dissoziations- (min⁻¹) Ratenkonstanten, K₁; Transferkonstante vom Plasma zum freien Kompartiment (min⁻¹), K'₁; Transferkonstante vom Plasma zum nicht-spezifischen Kompartiment (min⁻¹), k₂; Transferkonstante vom freien Kompartiment zum Plasma (min⁻¹), k'₂; Transferkonstante vom nicht-spezifischen Kompartiment zum Plasma (min⁻¹), k₃, k₄; Transferkonstanten zwischen freiem und spezifisch gebundenem Kompartiment (min⁻¹), k₅, k₆; Transferkonstanten zwischen freiem und nicht-spezifisch gebundenem Kompartiment in der Vier-Kompartiment-Konfiguration, [L]; Konzentration des ungebundenen Liganden (Bq/ml), [LR]; Konzentration des gebundenen Liganden (Bq/ml), [R]; Konzentration des ungebundenen Rezeptors (mol/g), REF; Referenzregion, ROI; Zielregion.

Messung der arteriellen freien Ligandenkonzentration. Der Erhalt von arteriellen Input-Funktion ist jedoch bei Kleinnagern wie Ratten und Mäusen problematisch, da Tieren dieser Größe nicht zu wiederholten Malen hinreichende Blutmengen entnommen werden können. Überdies ist bei manchen Tracern die exakte Metabolitenbestimmung im Blutplasma schwierig; dies gilt insbesondere für ^{11}C -markierte Tracer, die einer raschen Metabolisierung unterliegen. Aus diesem Grunde wurden nicht-invasive Quantifizierungsmodelle entwickelt, denen die Vorstellung des „Verteilungsvolumens“ (DVR) zugrundeliegt (Laruelle et al., 1994a, b).

Das Verteilungsvolumen bezeichnet die Radioligandenmenge, die bei Equilibrium in einem Kompartiment verteilt ist. Man erhält sie durch Division der Tracerkonzentration im Kompartiment durch die arterielle Blutplasma-Konzentration multipliziert mit der freien Fraktion des Radioliganden f_1 im arteriellen Blut. Mithin ergeben sich für C_3 , C_2 und C_2' die Verteilungsvolumina $V_3 = \frac{C_3}{f_1 C_1}$, $V_2 = \frac{C_2}{f_1 C_1}$ und $V_2' = \frac{C_2'}{f_1 C_1}$. Dabei ist die Summe aus V_2 und V_3 gleich dem gesamten Verteilungsvolumen im Equilibrium, V_T . Wird C_2 aus Gl. (8) in Gl. (6) und (7) eingesetzt, ergibt sich nach Umformung

$$\frac{C_3}{f_1 C_1} = \frac{K_1 k_3}{k_2 k_4} \quad \text{Gl.(10)}$$

$$\frac{C_2'}{f_1 C_1} = \frac{K_1'}{k_2'} \quad \text{Gl.(11)}$$

Hieraus folgt $V_3 = \frac{K_1 k_3}{k_2 k_4}$, $V_2 = \frac{K_1}{k_2}$ und $V_2' = \frac{K_1'}{k_2'}$. Folglich ist - bei invasiver Quantifizierung - V_3 gleich BP ($= C_3/f_1 C_1$) und beschreibt die Beziehung $B_{\max}/K_D$ der Rezeptorparameter.

Sind C_1 oder f_1 nicht verfügbar, können V_3' oder V_3'' als Schätzwerte für V_3 beziehungsweise BP berechnet werden (Laruelle et al., 1994b). V_3' ist der Equilibriumsquotient C_3/C_1 und gleich f_1 BP. Dabei wird die Annahme zugrunde gelegt, dass f_1 nicht zwischen den einzelnen Messungen variiert. Bei non-invasiver Quantifizierung ist das Verteilungsvolumen V_3'' die beste Schätzung für das Bindungspotential. V_3'' ist definiert als V_3/V_2 und ergibt sich aus $V_T/V_2 - 1$, wobei V_T das Gesamtgewebeverteilungsvolumen bezeichnet und gleich der Summe aus V_2 und V_3 ist. Sind die Gleichgewichtskonzentrationen des freien und des nicht-spezifisch gebundenen Liganden in allen Gehirnregionen gleich, kann V_2 aus einer transporter- oder

rezeptorfreien Region (REF) abgeleitet werden, und V_3'' ergibt sich aus $V_T(\text{ROI})/V_T(\text{REF})-1$ (Laruelle et al., 1994b). Zur Unterscheidung von $BP = B_{\max}/K_D$ wird das so ermittelte Bindungspotential hier als BP^* abgekürzt. BP^* steht zu BP und zu den kinetischen Parametern k_3 und k_4 in folgender Beziehung: $BP^* = \frac{V_3}{V_2} = \frac{BP}{V_2} = \frac{B_{\max}}{V_2 K_D} = \frac{C_3 / f_1 C_1}{C_2 / f_1 C_1} = \frac{C_3}{C_2} = \frac{k_3}{k_4}$. Sind V_2 und K_D konstant, ist $BP^* = B_{\max}$. Während $BP = C_3/f_1 C_1$ ist überdies $BP^* = f_2 B_{\max}/K_D$.

Das vereinfachte Referenzgewebemodell („simplified reference tissue model”; Lammertsma & Hume, 1996) beruht auf dem vollständigen Referenzgewebemodell („full reference tissue model”). Dieses geht von der Annahme aus, dass V_2 in allen Regionen konstant und gleich K_1/k_2 ist. Da der Blutfluss nicht in allen Regionen gleich ist, wird ein Parameter R_1 definiert, der das Verhältnis von K_1 in einer ROI zu K_1 in einer REF bezeichnet. Diese Annahmen führen zu

$$C_{ROI}(t) = R_1 C_{REF} + [B_1 \exp(-a_1 t) + B_2 \exp(-a_2 t)] \otimes C_{REF}(t) \quad \text{Gl. (12)}$$

mit $B_1 = (\frac{k_3 + k_4 - a_1}{a_2 - a_1})(\frac{k_2}{R_1} - a_1)$ und $B_2 = (\frac{a_2 - k_4 - k_3}{a_2 - a_1})(\frac{k_2}{R_1} - a_2)$. Die Parameter R_1 , k_2 , k_3

und k_4 werden im Allgemeinen durch iterative Minimierung der Fehlerquadrate bestimmt und ergeben $BP^* (= k_3/k_4)$. Da jedoch iterative Prozeduren Konvergenzproblemen unterliegen, die zu großen Standardfehlern bei den geschätzten Parametern führen können, wurde das robustere vereinfachte Referenzgewebemodell entwickelt. Unter der Annahme einer schnellen Kinetik in C_3 gilt hierbei, dass die Anpassung von Zeitaktivitätsdaten an ein Zwei-Kompartiment-Modell mit einem spezifischen ($\sim$ ROI) und einem nicht-spezifischen Kompartiment ($\sim$ REF) einen genauen Schätzwert des Verteilungsvolumens in der ROI ergibt. Die resultierende Gleichung

$$C_{ROI}(t) = R_1 C_{REF}(t) + k_2 (1 - \frac{R_1}{1 + k_3/k_4}) C_{REF}(t) \otimes \exp(\frac{-k_2 t}{1 + k_3/k_4}) \quad \text{Gl. (13)}$$

erlaubt die Schätzung der Parameter R_1 , k_2 and k_3/k_4 und liefert $BP^* (= k_3/k_4)$.

Die Radioaktivitätswerte in einer ROI und einer REF zu einer Zeit t werden durch $C_{ROI}(t) = C_2(t) + C_3(t) + C_1(t)V_1$ und $C_{REF}(t) = C_2'(t) + C_1(t)V_1$ beschrieben, wobei V_1 das Gefäßvolumen innerhalb der ROI bezeichnet. Beim Logans invasiven graphischen Modell (Logan et al., 1990) ergibt sich durch Integration beider Seiten von Gl. (7), Umformung, Substitution von $C_2'(t) = C_{REF}(t) - C_1(t)$ und $V_2' = K_1'/k_2'$ und Division beider Seiten durch $C_{REF}(t)$

$$\frac{\int_0^t C_{REF}(dt)}{C_{REF}(t)} = (V_2' f_1 + V_1) \frac{\int_0^t C_1(t)dt}{C_{REF}(t)} + \frac{1}{k_2'} \left(\frac{V_1 C_1(t)}{C_{REF}(t)} - 1 \right) \quad \text{Gl.(14)}$$

Für das Drei-Kompartiment-Modell folgt aus Gl. (5) und (6)

$$\frac{\int_0^t C_{ROI}(t)}{C_{ROI}(t)} = f_1 V_2 + f_1 V_3 + V_1 \frac{\int_0^t C_1(t)dt}{C_{ROI}(t)} + b \quad \text{Gl.(15)}$$

Wird $\int_0^t C_{ROI}(t')dt' / C_{ROI}(t)$ gegen $\int_0^t C_1(t')dt' / C_{ROI}(t)$ aufgetragen, erhält man eine Gerade mit der Steigung $a = f_1 V_2 + f_1 V_3 + V_1$ und einem x-Achsen Abschnitt b. Vernachlässigt man V_1 und nimmt man an, dass V_2 und V_2' gleich sind, ergeben sich BP und BP* als $BP = f_1(a-a')$ beziehungsweise $BP^* = a/a' - 1$.

Da $C_{ROI}(t) = C_2(t) + C_3(t) + C_1(t)V_1$ und $C_{REF}(t) = C_2'(t) + C_1(t)V_1$, erhält man in Logans nicht-invasivem graphischen Modell (Logan et al., 1996) durch Substitution von $C_{REF}(t)$ für $(C_2(t) + C_1(t)V_1)$ in Gl. (15)

$$\frac{\int_0^t C_{ROI}(t)dt}{C_{ROI}(t)} = \frac{a}{a'} \frac{(\int_0^t C_{REF}(t)dt - C_{REF}(t)/k_2')}{C_{ROI}(t)} + n(t) \quad \text{Gl.(16)}$$

wobei $n(t)$ den vaskulären Effekt innerhalb der ROI über die Zeit t bezeichnet.

Wird $\int_0^t C_{ROI}(t')dt' / C_{ROI}(t)$ gegen $(\int_0^t C_{REF}(t')dt' - C_{REF}(t')/k_2') / C_{ROI}(t)$ aufgetragen, ist die Steigung gleich dem Verteilungsvolumenquotienten im DVR ($= [V_2 + V_3]/V_2$). Dabei ist $DVR = BP^* + 1$. Die Verwendung von Gl. (16) erfordert, dass k_2' aus dem invasiven graphischen Modell abgeleitet wird. Dabei wird die Annahme zugrunde gelegt, dass der übernommene Wert für das vorliegende Untersuchungsobjekt repräsentativ ist.

Das dynamische Modell beruht auf dem kinetischen Drei-Kompartiment-Modell (Mintun et al., 1984, Perlmutter et al., 1986, Wong et al., 1986). Die Kinetik des Radioliganden kann mit Gl. (5), (6) und (7) bestimmt werden. Dabei ist $k_3 = k_{on}(B_{\max} - \frac{C_3(t)}{SA})f_2$, wobei SA die spezifische Aktivität des Radioliganden bezeichnet. Ist SA hoch, und wird der Radioligand in Tracerdosen verabreicht, dann ist $\frac{C_3(t)}{SA} \ll B_{\max}$, und ein Schätzwert für k_3 ergibt sich aus dem

Produkt von k_{on} , B_{max} und der freien Fraktion des Radioliganden f_2 , in C_2 .

In den bislang mit dedizierten Kleintiertomographen durchgeführten *in vivo* Studien zur DAergen Rezeptor- und Transporterkinetik wurde die Notwendigkeit einer arteriellen Input-Funktion auf verschiedene Weisen umgangen: neben der Bestimmung der Radioaktivität als Prozentsatz der pro Gewebevolumen injizierten Radioaktivitätsdosis (Ogawa et al., 2000) und als gewichtsnormalisierte Rechts/Links-Quotienten (Sohlberg et al., 2005) erfolgte die Auswertung durch Anwendung dynamischer (Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998), non-invasiv graphischer (Chen et al., 1997, 1999, Brownell et al., 1998, Nguyen et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Björklund et al., 2002, Cicchetti et al., 2002, Le Masurier et al., 2004, Schiffer et al., 2006) und vereinfachter Referenzgewebe-Modelle (Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, 1998, Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, 1998, Fricker et al., 1997, Sullivan et al., 1998, Araujo et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b, Umegaki et al., 2002, Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, 2005, Kawamura et al., 2003, Inaji et al., 2005).

1.2.2. Rezeptorstudien mit der Methode der Kleintiertomographie

1.2.2.1. PET

Verstärkung, Lernen und Gedächtnis. Kokain bindet an den DAT und blockiert die DA-Wiederaufnahme in die präsynaptischen Endigungen. Hierdurch wird die DA-Konzentration im synaptischen Spalt erhöht, was zu einer gesteigerten Aktivierung der postsynaptischen DA-Rezeptoren führt. Es wird angenommen, dass diese Steigerung der DAergen Neurotransmission viele der verstärkenden Effekte von Kokain mediert (Ritz et al., 1987). Zur Untersuchung der Wirkung auf die D₁- und D₂-Rezeptorbindung wurden Ratten zwei, sieben oder 14 Tage lang drei Mal pro Tag im Abstand von jeweils einer Stunde mit Kokain behandelt (Tsukada et al., 1996). Die erste Messung nach zwei Tagen ergab, dass diese Art der „Binge“-Verabreichung weder die striatale D₁- noch die D₂-Rezeptorbindung von [¹¹C]SCH23390 beziehungsweise [¹¹C]MSP beeinflusst. Nach sieben Tagen war die striatale [¹¹C]SCH23390-Bindung gegenüber den mit

physiologischer Kochsalzlösung (0.9% NaCl) behandelten Kontrollen um 15% reduziert, während die [^{11}C]MSP-Bindung unverändert blieb. Nach 14 Tagen waren sowohl die [^{11}C]SCH23390- als auch die [^{11}C]MSP-Bindung um 14 beziehungsweise 41% reduziert. Nach zehntägigem Entzug kehrte die [^{11}C]SCH23390-Bindung zu den Werten der Kontrollgruppe zurück und war auch nach 21 Tagen noch unverändert (Maggos et al., 1998). Im Gegensatz hierzu war die [^{11}C]MSP-Bindung nach zehntägigem Entzug um 18% erniedrigt und erreichte erst nach 21 Tagen Entzug die Werte der Kontrollgruppe.

Zentrales DA- und Opiatsystem mediieren Verstärkung und lokomotorische Aktivität. Nalmefen ist ein Opiatrezeptorantagonist, der Strukturähnlichkeit mit Naloxon und Naltrexon aufweist und an μ -, δ und κ -Opiatrezeptoren bindet. Da sowohl endogene Opiatpeptide als auch Opiatdrogen die Freisetzung von DA über GABAerge Interneurone stimulieren (Johnson & North, 1992), wurden in einer weiter führenden Untersuchung die Effekte von akut und chronisch verabreichten Nalmefen auf die Bindung von [^{11}C]SCH23390 und [^{11}C]MSP untersucht (Unterwald et al., 1997). Akute Verabreichung von Nalmefen erhöhte gegenüber 0.9% NaCl das Bindungspotential von [^{11}C]SCH23390 im Striatum der Ratte um 27%. Keinerlei Veränderung der [^{11}C]MSP-Bindung wurde beobachtet. Überdies wurden nach chronischer Verabreichung weder Veränderungen in der D_1 - noch in der D_2 -Rezeptorbindung beobachtet, was lediglich vorübergehende Veränderungen in der DAergen Neurotransmission nahe legt.

Seneszenz und Morbus Alzheimer. PET-Untersuchungen am Menschen zeigten eine altersabhängige Verringerung striataler DA-Rezeptoren, die mit motorischen wie auch kognitiven Defiziten korrelierte (Antonini et al., 1993). Zum Zweck der Validierung untersuchten Suzuki und Mitarbeiter sowohl *in vivo* als auch *in vitro* die Altersabhängigkeit der D_1 - und D_2 -Rezeptorbindung bei der Ratte (Suzuki et al., 2001); dabei wurden die D_1 - und D_2 -Rezeptorliganden SCH23390 beziehungsweise Racloprid für die PET-Untersuchung mit ^{11}C und für die autoradiographische Untersuchung mit ^3H markiert. *In vivo* wurde weder für die D_1 - noch für die D_2 -Rezeptorbindung ein Unterschied zwischen sechs und zwölf Monate alten Ratten gefunden. Bei 18 und 24 Monate alten Tieren war das Bindungspotential von [^{11}C]Racloprid um 20 beziehungsweise 30% erniedrigt. Die Resultate hinsichtlich der D_1 -Rezeptorbindung waren nicht konsistent. Im Gegensatz hierzu war *in vitro* sowohl die D_1 - als auch die D_2 -Rezeptorbindung im Abhängigkeit vom Alter reduziert. Überdies traten altersabhängige Verringerungen bereits bei zwölf Monate alten Tieren in Erscheinung, wobei D_1 - und D_2 -

Rezeptorbindung um 28 beziehungsweise 22% vermindert waren. Während der folgenden zwölf Monate wurde keine weitere Reduktion beobachtet.

D₂-Rezeptor-Gentransfer in das Striatum ist eine zukunftsweisende Strategie für die Behandlung altersassoziierter und anderer motorischer Defizite, die mit einer fortschreitenden Verringerung der D₂-Rezeptordichte einhergehen. Ikari und Mitarbeiter entwickelten einen adenoviralen Vektor namens AdCMV.DopD₂R, der die cDNA für den D₂-Rezeptor enkodiert (Ikari et al., 1995). Die Injektion dieses Vektors in das Striatum juveniler Ratten induzierte eine erhöhte Expression der D₂-mRNA sowie des D₂-Rezeptorproteins. Dabei war die Zunahme der D₂-Rezeptorexpression von APO-induziertem Drehverhalten begleitet (Umegaki et al., 1995). Ogawa und Mitarbeiter untersuchten die Eignung von PET für die Darstellung der vektorinduzierten Veränderungen der D₂-Rezeptordichte (Ogawa et al., 2000). In der Kontrollbedingung wurde juvenilen Ratten der Vektor für die Expression der β -Galactosidase (AdCMV.LacZ) verabreicht. Die D₂-Rezeptorbindung wurde mit den Radioliganden [¹¹C]Racloprid, [¹¹C]MSP und [¹¹C]Nemonaprid untersucht. Zwei Tage nach der Vektorinjektion war in den mit AdCMV.DopD₂ behandelten Striata die D₂-Rezeptorbindung verglichen mit der unbehandelten Seite um 12 ([¹¹C]Racloprid), 18 ([¹¹C]MSP) und 8% ([¹¹C]Nemonaprid) erhöht. Zusätzliche Untersuchungen mit dem D₁-Rezeptorliganden [¹¹C]SCH23390 und dem DAT-Liganden [¹¹C] β -CIT zeigten keinerlei Unterschiede in der D₁-Rezeptor- und DAT-Bindung zwischen behandelten und unbehandelten Striata.

In einem folgenden Experiment wurden die PET-Messungen am zweiten und dritten Tag nach dem Transfer des AdCMV.DopD₂- oder des Kontrollvektors durchgeführt (Umegaki et al., 2002). Im Vergleich zur Kontrollbedingung war die striatale [¹¹C]Racloprid-Bindung an Tag 2 und Tag 3 um 13 beziehungsweise 16% erhöht. Am elften Tag nach Vektorinjektion hatte die D₂-Rezeptorbindung wiederum die Werte der Kontrollbedingung erreicht.

Manie. Als Ursache der Manie wird eine Hyperaktivität des DAergen Systems angenommen. Untersuchungen von Mc Tavish und Mitarbeitern zeigten, dass die DA-Freisetzung unter anderem durch Tyrosin-Depletion reduziert zu werden vermag (Mc Tavish et al., 2001a). Tyrosin-Depletion kann durch die Einnahme tyrosinfreier Aminosäuremischungen erfolgen, die zu einer Erhöhung der Proteinsynthese und zunehmenden Mengen verzweigter Ketten und großer neutraler Aminosäuren führt, die mit Tyrosin um die Aufnahme ins Gehirn kompetitieren. Neurochemische und Verhaltensstudien bei Ratten haben gezeigt, dass eine

tyrosinfreie Aminosäuremischung sowohl die DA-freisetzenden als auch die psychostimulierenden Effekte von AMPH zu reduzieren vermag (Mc Tavish et al., 1999, 2001b). Le Masurier und Mitarbeiter untersuchten die Wirkung einer sowohl allein als auch in Kombination mit AMPH verabreichten tyrosinfreien Aminosäuremischung auf die striatale D₂-Rezeptorbindung bei der Ratte (Le Masurier et al., 2004). Die Applikation von AMPH (2 mg/kg) induzierte eine 12%ige Reduktion des DVR-Wertes von [¹¹C]Racloprid im Vergleich zu mit 0.9% NaCl behandelten Kontrollen. Die intraperitoneal verabreichte tyrosinfreie Aminosäuremischung (1 g/kg) führte zu einem 7%igen Anstieg des DVR-Wertes von [¹¹C]Racloprid und verringerte die AMPH-induzierte Reduktion, ohne sie jedoch vollständig zu blockieren.

ADHS. Zur Behandlung von ADHS können Stimulanzien wie AMPH und MP eingesetzt werden. Ihre therapeutische Wirksamkeit resultiert aus einer Erhöhung der endogenen DA-Konzentrationen in Striatum und Neokortex (s. Übersichtsarbeit von Carboni & Silvagni, 2004), wobei sich jedoch die Wirkmechanismen deutlich unterscheiden. So konnte gezeigt werden, dass AMPH die Freisetzung von DA in den Extrazellulärraum stimuliert (Callaway et al., 1989), während die Hauptwirkung von MP in der kompetitiven Inhibierung der DA-Wiederaufnahme in das präsynaptische Neuron besteht (Zetterström et al., 1988, Woods & Meyer, 1991). Steigerungen der extrazellulären DA-Konzentration sind damit nach Seeman und Madras auf passive Diffusion von DA aus dem synaptischen Spalt zurückzuführen (Seeman & Madras, 1998). Dabei ist die AMPH-induzierte Zunahme an extrazellulärem DA etwa dreimal höher als der extrazelluläre DA-Anstieg nach vergleichbaren Dosen von MP und anderen Wiederaufnahmehemmern (Hurd & Ungerstedt, 1989, Kuczenski & Segal, 1992, 1997). In ihrer Anfang des Jahres veröffentlichten Studie untersuchten Schiffer und Mitarbeiter die Effekte von AMPH und MP auf die „extrazelluläre“ und auf die „synaptische“ DA-Konzentration im Striatum der Ratte, wobei die Bestimmung der ersteren mittels *in vivo* Mikrodialyse im „extrazellulären Kompartiment“ und die Bestimmung der letzteren mittels PET und [¹¹C]Racloprid im „synaptischen Kompartiment“ erfolgte (Schiffer et al., 2006). Die PET-Untersuchungen zeigten nach Behandlung mit AMPH (2.5 mg/kg) und MP (5 mg/kg) eine Reduktion der striatalen D₂-Rezeptorbindung um 24 beziehungsweise 21%; nach Applikation von AMPH jedoch ergaben die Mikrodialysestudien eine 1400%ige Zunahme der extrazellulären DA-Konzentration, während die Vorbehandlung mit MP lediglich eine Zunahme um 360%

hervorrief.

Morbus Huntington. Exzitotoxische Läsionen des anteromedialen Rattenstriatums mit Iboten- (IA), Kainin- (KA) oder Quinolinsäure (QA) induzieren Verhaltensänderungen, die durch lokomotorische Hyperaktivität und eine verschlechterte Lernleistung bei Labyrinthaufgaben gekennzeichnet sind. Überdies zeigen die Tiere eine striatale Atrophie, wie sie auch in den Striata von Huntington-Patienten in Erscheinung tritt (s. Übersichtsarbeit von Beal, 1994). Torres wie auch Hume und Mitarbeiter untersuchten mit [^{11}C]Racloprid die D₂-Rezeptorbindung in intaktem Striatum, denerviertem Striatum nach Applikation von IA oder regeneriertem Striatum nach Implantation striataler oder kortikaler Zellsuspensionen (Torres et al., 1995, Hume et al., 1996). Die Implantation erfolgte 14 Tage nach der Läsion. Die Ratten wurden über einen Zeitraum von zwei Monaten untersucht; die Messungen begannen zehn Monate nach dem operativen Eingriff. Dabei zeigte sich eine 100%ige Reduktion der D₂-Rezeptorbindung im lädierten Striatum. Die Implantation der striatalen Zellen induzierte eine 25 bis 50%ige Erholung der [^{11}C]Racloprid-Bindung, während die Applikation kortikaler Zellsuspensionen keinerlei Erholung der D₂-Rezeptorbindung zeitigte.

In einer Folgestudie wurde der Einfluss des Gestationsalters des Donors embryonaler Zellen auf die Morphologie der striatalen Transplantate und auf die Erholung des Drehverhaltens nach IA-Läsionen untersucht (Fricker et al., 1997a,b). Zu diesem Zweck wurden Rattenembryonen verschiedener Rumpflängen (10 mm: Gestationstag 14, 15 mm: Gestationstag 16) Eminentia lateralis und medialis herauspräpariert. Zellsuspensionen wurden zehn Tage nach der unilateralen striatalen IA-Läsion transplantiert. Der gezielte Gebrauch der Vorderpfote wurde zwischen vier und fünf Monaten nach der Transplantation gemessen. Zehn bis 14 Monate nach der Transplantation wurde die D₁- und D₂-Rezeptorbindung mit [^{11}C]SCH23390 beziehungsweise [^{11}C]Racloprid als Radioliganden untersucht. Sowohl die D₁- als auch die D₂-Rezeptorbindung war auf der lädierten im Vergleich zur kontralateralen Seite um 48 beziehungsweise 60% reduziert. Bei den Tieren, denen striatale Primordia von 10 mm langen Donoren transplantiert worden waren, war die ipsilaterale D₁- und D₂-Rezeptorbindung im Vergleich zu den Ratten, die keine Transplantate erhalten hatten, um 31 beziehungsweise 18% erhöht. Der Vergleich mit der kontralateralen Seite zeigte Reduktionen um 25 beziehungsweise 39%. Bei den Ratten, denen striatale Primordia von 15 mm langen Donoren transplantiert worden waren, blieben D₁- wie auch D₂-Rezeptorbindung unverändert. Ähnliche Resultate ergab der

Vorderpfotentest, wobei die gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen und der Vorderpfotengebrauch signifikant positiv korrelierten.

Der Effekt unilateraler intrastriärer QA-Injektionen auf die D₂-Rezeptorbindung wurde eine, fünf und sieben Wochen nach der Läsion untersucht (Araujo et al., 2000). Eine Woche nach dem Eingriff war die [¹⁸F]Ethylspiperon([¹⁸F]ESP)-Bindung im lädierten Striatum verglichen mit der nicht-lädierten Seite um 2% erhöht. Im Gegensatz hierzu wurde bei den gleichen Tieren eine Abnahme des Glucosemetabolismus im lädierten Striatum um 26 bis 35% beobachtet. Fünf und sieben Wochen nach der Läsion war die [¹⁸F]ESP-Bindung um 39 beziehungsweise 38% erniedrigt. Ähnliche Ergebnisse erbrachten nunmehr auch Untersuchungen mit [¹⁸F]FDG: fünf Wochen nach der Läsion war die ipsilaterale striatale [¹⁸F]FDG-Akkumulation um 40 bis 47% reduziert, während sieben Wochen nach der Läsion verglichen mit den unlädierten Kontrollen Abnahmen zwischen 39 und 51% gemessen wurden. Zusätzliche Untersuchungen der [¹⁸F]ESP-Bindung wurden drei, zehn und 16 Tage nach der Läsion durchgeführt; dabei wurden drei Tage nach der Läsion Zunahmen der D₂-Rezeptorbindung zwischen 53 und 93% beobachtet, während zehn Tage nach der Läsion lediglich Zunahmen zwischen 6 und 20% verzeichnet wurden; 16 Tage nach der Läsion war die [¹⁸F]ESP-Bindung ebenfalls um 6 bis 20% erniedrigt.

Wie Araujo et al. (2000) untersuchten auch Ishiwata und Mitarbeiter den Effekt einer unilateralen intrastriären QA-Injektion auf die D₂-Rezeptorbindung (Ishiwata et al., 2002a). Dabei verglichen sie die Bindung von [¹¹C]Racloprid, [¹¹C]Nemonaprid und [¹¹C]MSP am fünften Tag nach der Läsion. Die [¹¹C]Racloprid-Aufnahme war im lädierten Striatum verglichen mit der nicht-lädierten Seite um 14% erniedrigt, während die [¹¹C]Nemonaprid- und [¹¹C]MSP-Bindung um 7 beziehungsweise 26% erhöht war.

Ein pathologisches Charakteristikum der Chorea Huntington ist die selektive Degeneration der striatopallidalen Neurone; dabei ist bei Huntington- im Gegensatz zu Parkinson-Patienten die Reduktion der A_{2A}-Rezeptorbindung in Caudatoputamen und im Globus pallidus stärker ausgeprägt als die Abnahme der D₂-Rezeptorbindung (Glass et al., 2000). Hingegen haben autoradiographische Studien gezeigt, dass die D₁-Rezeptorbindung in stärkerem Maße als die D₂-Rezeptorbindung reduziert und die Abnahme der A_{2A}-Rezeptorbindung derjenigen der D₂-Rezeptorbindung vergleichbar ist (Levivier et al., 1994). Ishiwata und Mitarbeiter untersuchten die A_{2A}-, die D₁- und D₂-Rezeptorbindung bei Ratten mit unilateraler

QA-Läsion mittels [^{11}C]KF18446, [^{11}C]SCH23390 und [^{11}C]Racloprid (Ishiwata et al., 2002b). PET-Messungen wurden am fünften Tag nach der Läsion durchgeführt. Verglichen mit der nicht-lädierten Seite waren die striatalen Bindungspotentiale der A_{2A} -, D_1 - und D_2 -Rezeptoren um 27, 34 und 20% reduziert. Für [^{11}C]KF18446, [^{11}C]SCH23390 und [^{11}C]Racloprid betrugen die Quotienten der Bindungspotentiale im lädierten zu denjenigen im nicht-lädierten Striatum 0.75, 0.64 und 0.75 und ergaben somit keinen signifikanten Unterschied zwischen den Rezeptorsubtypen.

Morbus Parkinson. Die erste *in vivo* Untersuchung der D_2 -Rezeptorbindung bei der 6-OHDA-lädierten Ratte wurde mit einem klinischen PET-Scanner (Siemens ECAT-953B) durchgeführt und zeigte drei Wochen nach der Läsion eine im Vergleich mit nicht-lädierten Kontrolltieren um 23% erhöhte [^{11}C]Racloprid-Bindung im ipsilateralen Striatum (Hume et al., 1995). Gegenüber dem kontralateralen Striatum war die ipsilaterale D_2 -Rezeptorbindung um 16% erhöht. Einige Jahre später wurde die D_2 -Rezeptorkonzentration mit einem dedizierten Kleintier-Scanner zwischen der ersten und dritten Woche nach intranigraler 6-OHDA-Applikation untersucht (Nguyen et al., 2000); auch in dieser Studie wurde eine 19 bis 25%ige Zunahme der [^{11}C]Racloprid-Bindung im ipsilateralen Striatum beobachtet. Ähnliche Ergebnisse wurden von Rubins und Mitarbeitern mitgeteilt (Rubins et al., 1999). Eine Bestätigung ergab sich außerdem durch funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) nach pharmakologischer Challenge mit APO und AMPH, die beide zu einer Zunahme des zerebralen Blutvolumens in Striatum und Thalamus der lädierten beziehungsweise nicht-lädierten Seite führten (Nguyen et al., 2000).

Frühere Untersuchungen mit einem klinischen PET-Scanner (Siemens ECAT-953B) zeigten bei Ratten eine Zunahme der D_2 -Rezeptorbindung nach akuter Verabreichung von L-DOPA (Hume et al., 1995). In einer Folgestudie untersuchten Opacka-Juffry und Mitarbeiter, ob diese Zunahme der Radioligandenbindung auch nach Langzeitverabreichung von L-DOPA einer Veränderung unterliegt (Opacka-Juffry et al., 1998). Akut appliziertes L-DOPA (20 mg/kg) induzierte einen 40%igen Anstieg der striatalen [^{11}C]Racloprid-Bindung verglichen mit unbehandelten Kontrollen. Interessanterweise ergaben zusätzliche Mikrodialysestudien, dass L-DOPA eine bis zu 60%ige Zunahme an extrazellulärem DA zwischen der 100. und der 140. Minute nach der Injektion zeitigte, was dem für die PET-Untersuchungen gewählten Untersuchungszeitraum entspricht. Ging der einmaligen Injektion von L-DOPA eine Langzeitverabreichung im Trinkwasser (170 mg/kg/Tag über 5 Wochen) voraus, habituierten die

Tiere, und es wurde keinerlei D₂-Rezeptorsensibilisierung beobachtet.

In einer kürzlich veröffentlichten Studie von Inaji und Mitarbeitern wurde sowohl die D₂-Rezeptor- als auch die DAT-Bindung an Tag 13 bis 15 nach der unilateralen 6-OHDA-Läsion untersucht (Inaji et al., 2005). Dabei wurde 6-OHDA in zwei verschiedenen Dosen (0.25 µg/µl, 2 µg/µl) in das rechte mediale Vorderhinbündel appliziert. Als D₂-Rezeptorradioligand wurde [¹¹C]Racloprid verwendet; bezüglich der DAT-Bindungsstudie wird der Leser auf Kapitel 1.2.3. verwiesen. Die PET-Untersuchungen ergaben eine dosisabhängige Zunahme der striatalen [¹¹C]Racloprid-Bindung um 12 (0.25 µg/µl 6-OHDA) beziehungsweise 41% (2 µg/µl OHDA) verglichen mit der kontralateralen Seite. Zusätzlich durchgeführte *in vitro* Autoradiographiestudien erbrachten ähnliche Resultate, wobei die beobachteten Erhöhungen der [¹¹C]Racloprid-Bindung bei 4 (0.25 µg/µl OHDA) beziehungsweise 17% (2 µg/µl OHDA) lagen. Es bestand eine signifikante positive Korrelation zwischen dem Bindungspotential und der Anzahl der Drehungen nach APO-Challenge.

1.2.2.2. SPECT

Morbus Huntington. Mit einem aufgerüsteten klinischen Scanner (Siemens Orbiter ZLC 3700, Pinhole-Kollimator, Pinhole-Durchmesser: 2 mm) wurde die striatale D₂-Rezeptorbindung bei der QA-lädierten Ratte untersucht (Scherfler et al., 2005). Die SPECT-Messung erfolgte acht Wochen nach der Applikation von QA in drei verschiedenen Dosen mit [¹²³I]IBZM als Radioligand und ergab eine dosisabhängige Reduktion der ipsilateralen striatalen V₃''-Werte um 89 bis 99% im Vergleich zur nicht-lädierten kontralateralen Seite. In dieser Studie wurden funktionelle und MRT-Bilder koregistriert; dabei korrelierten striatales Restvolumen wie auch DA- und cAMP-regulierte Phosphoprotein(DARPP-32)-Immunoreaktivität signifikant mit der [¹²³I]IBZM-Bindung. Hingegen konnte weder eine Korrelation zwischen [¹²³I]IBZM-Bindung und lokomotorischer Aktivität noch zwischen [¹²³I]IBZM-Bindung und AMPH-induziertem Drehverhalten nachgewiesen werden.

Sohlberg und Mitarbeiter untersuchten die striatale D₂-Rezeptorbindung bei der QA-lädierten Ratte ebenfalls mit einem aufgerüsteten klinischen Scanner (Siemens Orbiter, Pinhole-Kollimator, Pinhole-Durchmesser: 2 mm; Sohlberg et al., 2005). Die SPECT-Messung erfolgte

vier Wochen nach Vornahme der QA-Läsion mit [123 I]Epideprid als Radioligand und ergab eine Reduktion des striatalen ipsi- zu kontralateralen Quotienten um 40%. Die Bestimmung der Zählraten im Bohrloch nach Gewebedissektion ergab eine Reduktion des striatalen ipsi- zu kontralateralen Quotienten in der gleichen Größenordnung.

1.2.3. Transporterstudien mit der Methode der Kleintiertomographie

1.2.3.1. PET

Seneszenz und Morbus Alzheimer. Kawamura und Mitarbeiter untersuchten die Altersabhängigkeit der DAT-Bindung (Kawamura et al., 2001) mit dem Radioliganden [11 C]CFT. Der k_3 -Wert war bei 24 Monate alten Ratten gegenüber sechs und zwölf Monate alten Tieren um 22 beziehungsweise 18% erniedrigt. Da die Befunde von Kawamura und Mitarbeitern jedoch auch eine Reduktion von k_4 um 21 beziehungsweise 13% gegenüber sechs und zwölf Monate alten Tieren ergaben, blieb BP (= k_3/k_4) unverändert (Kawamura et al., 2001).

Morbus Parkinson. In einer Weiterführung ihrer ersten Studie der D₂-Rezeptorbindung mit einem klinischen PET-Scanner (Hume et al., 1995) untersuchten Hume und Mitarbeiter die DAT-Bindung bei 6-OHDA-lädierten Ratten mit einem Kleintiertomographen (Hume et al., 1996). Als Radioligand wurde [11 C]RTI-121 verwendet. Die Messungen wurden zwischen der dritten und fünften Woche nach der Läsion der nigrostriatalen Faserverbindungen durchgeführt. Die DAT-Bindung war im ipsilateralen Striatum verglichen sowohl mit der kontralateralen Seite als auch mit beiden Striata in nicht-lädierten Kontrolltieren um 50% erniedrigt. Überdies stimmte das Bindungspotential mit dem Wert überein, der bei mit unmarkierten RTI-121 vorbehandelten Ratten gemessen wurde. Wie in der vorausgegangenen Untersuchung der D₂-Rezeptorbindung war die kontralaterale DAT-Bindung unverändert.

Nguyen und Mitarbeiter untersuchten die DAT-Bindung ebenfalls mit [11 C]CFT zwischen der ersten und dritten Woche nach 6-OHDA-Läsion und fanden in diesem Zeitraum eine ipsilaterale Reduktion der DAT-Bindung um 65 bis 85% (Nguyen et al., 2000). Diese Resultate

entsprechen späteren Befunden, die ebenfalls mit [^{11}C]CFT als Radioligand erbracht wurden (Chen et al., 1997, Rubins et al., 1999) und zudem eine Übereinstimmung mit fMRT- und Mikrodialysebefunden zeigten.

In einer weiteren Studie untersuchten Opacka-Juffry und Mitarbeiter den Effekt vollständiger und subtotaler 6-OHDA-Läsionen auf die DAT-Bindung zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Neurotoxinapplikation (Opacka-Juffry et al., 1996). „Vollständige“ Läsionen wurden durch Injektion des Neurotoxins in das mediale Vorderhirnbündel injiziert, während „subtotale“ durch 6-OHDA-Applikation in das dorsolaterale Striatum induziert wurden. Das erste von drei Tieren mit subtotalen Läsionen wurde eine, fünf und acht Wochen nach der Läsion untersucht; ipsi- und kontralaterales Bindungspotential von [^{11}C]RTI-121 unterschieden sich dabei zu keinem Zeitpunkt nach 6-OHDA-Injektion. Bei einem zweiten Tier war zwei Wochen nach der Läsion das ipsi- gegenüber dem kontralateralen Bindungspotential um 15% erniedrigt; nach zehn Wochen zeigte sich eine Reduktion um 20%. Bei einer dritten Ratte, die lediglich einmal - zwei Wochen nach der Läsion - untersucht wurde, war das ipsilaterale Bindungspotential ebenfalls um 15% reduziert. Alle drei Tiere mit vollständigen Läsionen zeigten eine 100%ige Reduktion der DAT-Bindung im ipsilateralen Striatum; dieser Effekt blieb für einen Zeitraum zwischen zwei Tagen und acht Wochen nach der Läsion unverändert.

In ihrer Untersuchung zu den therapeutischen Effekten neurotropher Faktoren verwendeten Opacka-Juffry und Mitarbeiter die nigrostriatale 6-OHDA-Läsion als Modell für die unilaterale Parkinsonsche Krankheit (Opacka-Juffry et al., 1995). „Glial cell line-derived neurotrophic factor“ (GDNF) wurde unmittelbar vor der 6-OHDA-Injektion oberhalb der Substantia nigra in das ipsilaterale mediale Vorderhirnbündel appliziert. Zwischen Tag 1 und Tag 21 nach der Läsion wurden wiederholte Messungen mit [^{11}C]RTI-121 durchgeführt. In nicht mit GDNF vorbehandelten Ratten war das Bindungspotential zwischen Tag 2 und Tag 21 nach der Läsion im ipsilateralen verglichen mit dem kontralateralen Striatum um 49% reduziert. Im Gegensatz hierzu war die ipsilaterale [^{11}C]RTI-121-Bindung in GDNF-behandelten Ratten nur um 17% gegenüber der kontralateralen Seite erniedrigt. Diese Befunde wurden durch Verhaltens- und neurochemische Analysen bestätigt: die Rotationsrate nach AMPH-Challenge überstieg bei nicht mit GDNF vorbehandelten Tieren acht Drehungen/Minute, während GDNF-behandelte Tiere eine durchschnittliche Rotationsrate von drei Drehungen/Minute zeigten. Überdies war die DA-Depletion in der nicht mit GDNF vorbehandelten Gruppe größer als 96%, während in der

GDNF-behandelten Gruppe lediglich Depletionen von etwa 40% beobachtet wurden. Der ipsilaterale DA-Metabolismus war bei den nicht vorbehandelten Tieren im Vergleich zur kontralateralen Seite und zu nicht lädierten Kontrolltieren um 160% erhöht. Bei den vorbehandelten Tieren zeigte der DA-Metabolismus keine signifikante Veränderung.

In einer Folgestudie wurden die Effekte von GDNF bei 6-OHDA-lädierten Ratten über einen Zeitraum von zwölf Wochen nach der Läsion beobachtet (Sullivan et al., 1998). In dieser Untersuchung wurde GDNF sowohl ipsilateral oberhalb der Substantia nigra als auch in den lateralen Ventrikel appliziert. Wie in der vorangegangenen Untersuchung reduzierte die Vorbehandlung mit GDNF die 6-OHDA-induzierte DAT-Degeneration im ipsilateralen Striatum: in den nicht mit GDNF vorbehandelten Tieren war das ipsilaterale Bindungspotential von [¹¹C]RTI-121 gegenüber der intakten kontralateralen Seite zwei, acht und zwölf Wochen nach der Läsion um 51, 55 und 72% reduziert, während bei den vorbehandelten Tieren lediglich Reduktionen um 17, 21 und 11% beobachtet wurden. Überdies verringerte GDNF auch in dieser Studie das AMPH-induzierte Drehverhalten, die DAerge Depletion und - als Folge hiervon - den DA-Metabolismus.

Immunmechanismen spielen bei der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen eine wichtige Rolle. Frühere Studien zeigten, dass die 6-OHDA-induzierte Degeneration des DAergen Systems eine gliale Entzündungsreaktion hervorruft (Akiyama & McGeer, 1989). Dabei wird angenommen, dass diese durch Zykllooxygenasen medierte Entzündungsreaktion einen der Faktoren darstellt, die bei neuronaler Degeneration zu Apoptose führen. Cicchetti und Mitarbeiter untersuchten die mikrogliale Entzündungsreaktion bei 6-OHDA-lädierten Ratten mit dem Benzodiazepinrezeptorantagonisten [¹¹C]1-(2-Chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolin-carboxamid ([¹¹C]PK11195) als spezifischem Liganden für aktivierte Mikroglia (Cicchetti et al., 2002). Das Ausmaß der 6-OHDA-induzierten striatalen Degeneration wurde mit dem DAT-Liganden [¹¹C]CFT bestimmt. Bildgebung erfolgte unmittelbar vor und drei Wochen nach Neurotoxinapplikation. Drei Wochen nach der Läsion war die striatale [¹¹C]CFT-Bindung im Vergleich zur vorangegangenen Messung um 65% reduziert. Die [¹¹C]PK11195-Bindung war in Substantia nigra und Neostriatum um 45 beziehungsweise 67% erhöht; mithin stellen neuroentzündliche Prozesse eine wichtige Komponente progressiver DAerger Degeneration im 6-OHDA-Modell der Ratte dar.

Die Wirkung der fetalen Zelltransplantation auf die striatale DAT-Bindung wurde bei 6-

OHDA-lädierten Ratten mit [^{11}C]CFT als Radioligand untersucht (Brownell et al., 1998). Die ipsilaterale [^{11}C]CFT-Bindung war verglichen sowohl mit der kontralateralen Seite als auch mit nicht operierten Kontrollen um 65 bis 88% reduziert. Nach Übertragung nicht-DAerger Zellen aus dem dorsalen Mesenzephalon verblieb die DAT-Bindung auf diesem Niveau, und die Ratten zeigten keinerlei Verhaltenserholung. Im Gegensatz hierzu erreichte die ipsilaterale DAT-Bindung nach Transplantation DAerger Zellen aus dem ventralen Mesenzephalon 85% der intakten kontralateralen Seite. Nur die Tiere, die DAerge Zelltransplantationen erhalten hatten, zeigten eine Erholung von AMPH-induziertem Drehverhalten. Ähnliche Ergebnisse zeigte eine Folgestudie, bei der die Erholung der DAT-Bindung nach Transplantation fetaler DAerger Zellen mit einer Normalisierung der veränderten fMRT-Signale einherging (Chen et al., 1999).

Embryonale Stammzellen sind selbst-erneuernde, multipotente Zellen, die aus der inneren Zellmasse der Blastozyste hervorgehen. So konnte gezeigt werden, dass sich Mäusestammzellen, die normalen Mäusen und 6-OHDA-lädierten Ratten transplantiert wurden, spontan in TH- und 5-HT-positive Neuronen zu differenzieren vermögen (Deacon et al., 1998). Björklund und Mitarbeiter stellten die Hypothese auf, dass die Reduktion des Kontaktes zwischen den Stammzellen eine Erhöhung des durch die adulte Gastregion ausgeübten Einflusses bedingt und folgerten hieraus, dass durch eine Verdünnung der Stammzellen in Einzelzellsuspensionen niedriger Konzentration die neuronale Entwicklung begünstigt würde (Björklund et al., 2002). Um dies zu testen, wurde Ratten 6-OHDA in das mediale Vorderhirnbündel appliziert; nach Quantifizierung des AMPH-induzierten Drehverhaltens erfolgte die Transplantation von Mäusestammzellen in das lädierte Striatum. Als Maß für die Differenzierung DAerger Zellen wurde die DAT-Bindung mittels [^{11}C]CFT gemessen. Neun Wochen nach der Implantation war die [^{11}C]CFT-Bindung im lädierten Striatum verglichen mit der intakten kontralateralen Seite um 75 bis 90% erhöht. Bei den mit 0.9% NaCl behandelten Kontrolltieren betrug die [^{11}C]CFT-Bindung weniger als 25% der Bindung im unlädierten Striatum. Die Zunahme der DAT-Bindung ging mit einer Erholung von AMPH-induziertem Drehverhalten einher. Zusätzliche immunohistochemische Studien zeigten die Expression TH-positiver wie auch DAerger und 5-HTerger Neurone in den Striata mit Stammzellimplantaten. Untersuchungen mit fMRT ergaben zudem eine hämodynamische Reaktion auf AMPH in den behandelten Striata und im ipsilateralen sensomotorischen Kortex. Dabei waren die Signale in den behandelten und unlädierten Striata hinsichtlich Größe und Zeitverlauf ähnlich, während in den „sham“-

behandelten Kontrolltieren keinerlei Veränderungen beobachtet wurden.

In der Studie von Inaji und Mitarbeitern wurde neben der D₂-Rezeptor- (s. Kapitel 1.2.2.1.) auch die DAT-Bindung an Tag 13 bis 15 nach 6-OHDA-Läsion untersucht (Inaji et al., 2005). Dabei wurde 6-OHDA in zwei verschiedenen Dosen (0.25 µg/µl, 2 µg/µl) in das rechte mediale Vorderhinbündel appliziert. Als DAT-Radioligand wurde [¹¹C]N-(3-iodoprop-2E-enyl)-2β-carbomethoxy-3β-(4'-methylphenyl)-nortropan ([¹¹C]PE21) verwendet. Die PET-Untersuchungen ergaben eine dosisabhängige Reduktion der striatalen [¹¹C]PE21-Bindung um 42 (0.25 µg/µl 6-OHDA) beziehungsweise 87% (2 µg/µl OHDA) verglichen mit der kontralateralen Seite. Zusätzlich durchgeführte *in vitro* Autoradiographiestudien erbrachten ähnliche Resultate, wobei die gemessene [¹¹C]PE21-Bindung bei 60 (0.25 µg/µl OHDA) beziehungsweise 98 % (2 µg/µl OHDA) der kontralateralen Kontrollwerte lag. Es bestand eine signifikante negative Korrelation zwischen dem Bindungspotential und der Anzahl der Drehungen nach Metamphetamin(MAMPH)-Challenge.

1.2.3.2. SPECT

Morbus Parkinson. Die erste Untersuchung der DAT-Bindung bei 6-OHDA-lädierten Ratten mit einem dedizierten Kleintier-SPECT wurde von Booij und Mitarbeitern durchgeführt (Booij et al., 2002). Die SPECT-Messung erfolgte 14 Tage nach der Läsion; als Radioligand wurde [¹²³I]FP-CIT verwendet. Die Untersuchung ergab eine 29%ige Reduktion des ipsilateralen striatozerebellären Quotienten im Vergleich zur intakten kontralateralen Seite.

Überdies wurde die striatale DAT-Bindung bei der 6-OHDA-lädierten Ratte mit einem aufgerüsteten klinischen Scanner (Siemens Orbiter ZLC 3700, Pinhole-Kollimator, Pinhole-Durchmesser: 2 mm) untersucht (Scherfler et al., 2002). Die SPECT-Messung erfolgte sieben Wochen nach der 6-OHDA-Läsion mit [¹²³I]β-CIT als Radioligand und ergab zum einen eine Reduktion des ipsilateralen striatozerebellären Quotienten um 61% im Vergleich zur nicht-lädierten kontralateralen Seite und zum anderen eine Reduktion um 52% gegenüber nicht-lädierten Kontrolltieren. Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen der striatalen [¹²³I]β-CIT-Aufnahme und der nigralen TH-Immunoreaktivität.

1.2.4. Stand der *in vivo* Untersuchung des dopaminergen Systems mit dedizierter Kleintiertomographie

1.2.4.1. PET

PCR-I (s. Tab. I im Anhang). Die *in vivo* Untersuchungen 6-OHDA-lädierter Ratten zeigten eine Reduktion der DAT-Bindung im ipsilateralen Neostriatum (Chen et al., 1997, Nguyen et al., 2000, Cicchetti et al., 2002). Diese Resultate entsprechen den mit RATPET (Hume et al., 1996), MicroPET (Rubins et al., 1999) und Hamamatsu SHR-7700 (Inaji et al., 2005) erzielten Befunden. Die Degeneration des DAergen Systems geht mit einer Mikroglia-Aktivierung einher (Cicchetti et al., 2002), woraus sich auf eine Beteiligung neuroinflammatorischer Prozesse bei der 6-OHDA-induzierten Degeneration der DAergen Neurone schließen lässt. Die postoperative Erholung sowohl der DAT-Bindung als auch des motorischen Verhaltens wurde durch die Transplantation DAerger ventraler mesenzephaler Zellen faszilitiert (Brownell et al., 1998, Chen et al., 1999). Diese Ergebnisse bestätigen autoradiographische Befunde, die ebenfalls eine Erholung der DAT-Bindung, der DA-Konzentration, des DA-Metabolismus' und der motorischen Funktion nach Implantation fetaler DAerger Zellen zeigten (Hashitani et al., 1998). In den späten achtziger Jahren wiesen verschiedene Arbeitsgruppen nach, dass fetale Implantate in das Striatum von Parkinson-Patienten integriert werden können und zu einer teilweisen Wiederherstellung der DAergen Funktion führen (s. Übersichtsarbeit von Nikkah & Brandis, 1995). Die Weiterentwicklung dieses Behandlungsansatzes wird jedoch dadurch erschwert, dass für die Induktion therapeutischer Effekte große Mengen fetaler mesenzephaler Zellen erforderlich sind. Von zukunftsweisender Bedeutung könnte hierbei die Applikation von Stammzellen sein, die eine praktisch unbegrenzte Quelle sich selbst-erneuernder Progenitorzellen darstellen. *In vivo* konnte gezeigt werden, dass die Transplantation niedriger Dosen undifferenzierter Stammzellen in das Striatum eine Proliferation differenzierter DAerger Neurone induzierte (Björklund et al., 2002). In Anbetracht der kürzlich erfolgten Isolierung menschlicher Stammzelllinien (s. Übersichtsarbeit von Thomson & Marshall, 1998) eröffnen diese Resultate die Möglichkeit, embryonale Stammzellen als Donorquelle für die Behandlung der Parkinsonschen Krankheit zu nutzen.

Mit Ausnahme einer einzigen Studie (Cicchetti et al., 2002) beschränkt sich die Bildgebung der DAT-Bindung mit dem PCR-I-Scanner auf das Striatum der Ratte (Chen et al., 1997, 1999, Brownell et al., 1998, Nguyen et al., 2000, Björklund et al., 2002). In der ersten mit diesem Scanner durchgeführten Studie, die die Untersuchung des Glucosemetabolismus' im Neokortex nach experimentell induziertem Schlaganfall zum Gegenstand hatte, implementierten Brownell und Mitarbeiter eine Partialvolumenkorrektur mit Recovery-Koeffizienten zwischen 0.22 und 0.4 für kortiale ROIs zwischen 3.5 und 5.5 mm Größe (Brownell et al., 1991). Es wurde keine Spill-over-Korrektur vorgenommen. Die ROI-Positionierung erfolgte durch Überlagerung der PET-Bilder mit histopathologischen Schnitten. Im Gegensatz hierzu wurde bei den nächsten PCR-I-Untersuchungen an 6-OHDA-lädierten Ratten (Chen et al., 1997, 1999, Brownell et al., 1998, Nguyen et al., 2000, Björklund et al., 2002, Cicchetti et al., 2002) keine Partialvolumen-Korrektur durchgeführt. Ebenso wenig erfolgte eine konsistente Spill-over-Korrektur; eine fMRI-Studie (Chen et al., 1997) ergab lediglich, dass die im Parietalkortex gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen infolge Spill-overs aus dem Neostriatum um 10 bis 15% überschätzt wurden. Wie oben ausgeführt, macht das Fehlen einer konsistenten Partialvolumen- und Spill-over-Korrektur die absolute Quantifizierung der Daten unmöglich. Dies gilt insbesondere für die Untersuchung der Substantia nigra mit anterioposterioren und dorsoventralen Durchmessern von etwa 2 mm (Cicchetti et al., 2002). Des Weiteren reflektiert die verminderte Radioaktivitätsakkumulation im ipsilateralen Striatum in Läsionsmodellen wie der 6-OHDA-lädierten Ratte die läSIONSinduzierte Reduktion der spezifischen Bindung, während sich vor der Läsion die Signale in rechtem und linkem Striatum gegenseitig verstärken, da die Entfernung zwischen ihnen die räumliche Auflösung des Systems unterschreitet (Hume et al., 1996). Dies bedeutet, dass die folgenden Vergleiche valide bleiben: (a) Vergleich zwischen lädierter und nicht-lädierter Seite (Chen et al., 1997, Nguyen et al., 2000), (b) Vergleich zwischen lädierter und transplantierte Seite (Brownell et al., 1998, Chen et al., 1999, Björklund et al., 2002), und (c) Vergleich zwischen verschiedenen Zuständen derselben Seite (zum Beispiel vor und nach Läsion [Cicchetti et al., 2002]). Hingegen können Vergleiche zwischen den Seiten bei Kontrollen oder erhaltenen Tieren durch den Mangel an Spill-over-Korrektur konfundiert sein.

Hamamatsu SHR-2000 (s. Tab. I im Anhang). Die mit dem Hamamatsu SHR-2000 durchgeführten Rezeptorstudien zu den Mechanismen der Verstärkung zeigten eine Mediierung der DAergen Neurotransmission durch das opioide System (Unterwald et al., 1997). Überdies

war die DA-Rezeptorbindung nach der Verabreichung von Kokain in Binge-Form verringert, um nach Entzug der Droge wieder anzusteigen (Tsukada et al., 1996, Maggos et al., 1998). Separat durchgeführte *in vivo* Sättigungsbindungsstudien ergaben jedoch keine Reduktion der DA-Rezeptordichte nach Binge-Verabreichung von Kokain (Tsukada et al., 1996). In ihrer Untersuchung zur Altersabhängigkeit der DAT-Bindung zeigten Kawamura und Mitarbeiter eine Reduktion der beiden Ratenkonstanten k_3 und k_4 , während der Quotient - das Bindungspotential - unverändert blieb (Kawamura et al., 2003). Im Gegensatz hierzu ergaben sich für die verschiedenen Altersgruppen bei der Gewebedissektionsmethode signifikante Unterschiede zwischen den striatozerebellären Quotienten, die dem mit der vereinfachten Referenzgewebemethode ermittelten Bindungspotential entsprechen. Da in früheren Experimenten gezeigt worden war, dass Isofluran die [^{11}C]CFT-Bindung im Affengehirn verändert (Tsukada et al., 1999), schlossen die Autoren, dass die Anästhesie möglicherweise bei alten und jungen Ratten unterschiedliche Einflüsse auf die DAT-Bindung zeitigt, die zu dem unerwarteten *in vivo* Befund einer nicht ersichtlichen altersabhängigen Veränderung des Bindungspotentials führen.

Rezeptorbindungsstudien zeigten eine altersabhängige Reduktion der D_2 -Rezeptorbindung (Suzuki et al., 2001). Der zeitliche Beginn der Degeneration stimmte jedoch *in vivo* und *in vitro* nicht überein; *in vitro* konnte eine Reduktion der D_2 -Rezeptorbindung bereits bei zwölf Monate alten Tieren beobachtet werden, während sie *in vivo* erst in einem Alter von 18 Monaten in Erscheinung trat. Applikation eines die cDNA des D_2 -Rezeptors enkodierenden adenoviralen Vektors induziert einen kurzzeitigen Anstieg der D_2 -Rezeptorbindung bei juvenilen Ratten (Umegaki et al., 1997, Ogawa et al., 2000); dies legt ein Potenzial adenoviraler Vektoren für die Behandlung von Defiziten nahe, die mit einer progressiven Reduktion der D_2 -Rezeptorbindung einhergehen. In Ratten mit exzitotoxischen striatalen Läsionen waren $\text{A}_{2\text{A}}$ -, D_1 - und D_2 -Rezeptorbindung auf der lädierten verglichen mit der nicht-lädierten Seite reduziert; dieses Resultat entspricht *ex vivo* wie auch *in vitro* erzielten autoradiographischen Befunden (Ishiwata et al., 2002a). In einer weiteren Studie wurde eine verminderte striatale Aufnahme von [^{11}C]Racloprid auf der lädierten Seite beobachtet, während eine erhöhte Aufnahme für [^{11}C]Nemonaprid und [^{11}C]MSP nachgewiesen wurde (Ishiwata et al., 2002b). Dieser Befund wurde weder durch *in vitro* noch durch *ex vivo* Autoradiographie bestätigt, die für alle drei Liganden reduzierte Rezeptorbindungen zeigten. Bemerkenswert ist dabei jedoch, dass auch Araujo und Mitarbeiter mit einem Strukturanalogon von [^{11}C]MSP, [^{11}F]ESP, frühzeitig nach der

Vornahme der QA-Läsion eine Zunahme der D₂-Rezeptorbindung nachzuweisen vermochten (Araujo et al., 2000). Autoradiographische Studien haben gezeigt, dass Spiperon und seine Analoga nicht nur an D₂- sondern auch an andere Rezeptoren - insbesondere an 5-HT₂-Rezeptoren - binden (s. Übersichtsarbeit von Seeman & Grigoriadis, 2001). Mithin könnte die Zunahme der [¹¹C]MSP- und [¹¹F]ESP-Akkumulation nicht nur auf die striatale D₂- sondern auch auf die keinerlei Depletion unterliegende 5-HT₂-Rezeptorbindung zurückzuführen sein. Überdies wird ein Abhängigkeitsverhältnis zwischen der Radioligandenbindung und der DA-Rezeptoraffinität angenommen. Dabei kann jeder DA-Rezeptor entweder in einem Zustand hoher oder in einem Zustand niedriger Affinität zu DA vorliegen (s. Übersichtsarbeit von Seeman & Grigoriadis, 2001); mithin kann die Konversion von einem Affinitätszustand in den anderen zu veränderten Präferenzen für die applizierten Radioliganden verglichen mit dem endogenen DA führen.

Die mit dem Hamamatsu SHR-2000 durchgeführten Studien beschränken sich auf Neokortex und Striatum der Ratte. Die mit dem Neokortex befassten Studien hatten Glucosemetabolismus und Gehirnperfusion zum Gegenstand, nicht aber die DA-Rezeptorbindung und werden daher in dieser Übersicht nicht weiter berücksichtigt. In den Studien, die die Untersuchung der Rezeptorbindung zum Gegenstand hatten, wurde nicht für möglichen Spillover aus den Harderschen Drüsen korrigiert (Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998, Ogawa et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Umegaki et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a, b, Kawamura et al., 2003). Problematisch ist überdies der Datenvergleich über die Zeit oder zwischen den Gruppen, da die Positionierung der ROIs infolge mangelnder morphologischer Koregistrierung bei den individuellen Messungen voneinander abweichen kann. Ishiwata und Mitarbeiter führten Bindungsstudien mit verschiedenen D₂-Rezeptorliganden im Striatum der Ratte durch und berichteten, dass die mit PET gemessenen striatozerebellären Quotienten infolge von Partialvolumeneffekten nur die Hälfte der mit dem Gammazähler nach *post mortem* Dissektion ermittelten Quotienten erreichten (Ishiwata et al., 1999). In einer späteren Studie waren die mit *ex vivo* und *in vitro* Autoradiographie bestimmten Bindungspotentials gegenüber den mit PET ermittelten Werten um 28 und 53% für A_{2A}-, 53 und 67% für D₁- und 17 und 43% für D₂-Rezeptoren erniedrigt (Ishiwata et al., 2002a). Entsprechend zeigte auch die Studie von Kawamura und Mitarbeitern, dass die mit PET bestimmten striatalen Bindungspotentiale 65 bis 74% der mit dem Gammazähler nach *post mortem* Dissektion erhaltenen Werte betrugen

(Kawamura et al., 2003). In ihrem Bestreben, eine Partialvolumenkorrektur zu etablieren, führten Ishiwata und Mitarbeiter eine Studie mit drei Phantomen durch, die 1) das Striatum, 2) das Zerebellum und 3) das Striatum samt umliegenden Neokortex vorstellten (Ishiwata et al., 2002a). Die Recovery-Werte in den 25 mm² und 60 mm² großen ROIs auf den Bildern des Striatum- und Zerebellumphantoms waren vergleichbar (45 und 44%), während die Recovery in der 25 mm² großen ROI innerhalb des Kortexphantoms erhöht war. Ishiwata und Mitarbeiter berichteten zudem, dass sich die gemessenen striatokortikalen Quotienten zwischen den Radioliganden unterschieden und zeitabhängig variierten. Auf Grund dieser Schwierigkeiten verzichteten sie auf die Implementierung einer Partialvolumenkorrektur. Offensichtlich beeinträchtigen die beschriebenen Effekte auch die Vergleichbarkeit der Veränderungen in den einzelnen Rezeptorsystemen, die Gegenstand der von Ishiwata und Mitarbeitern durchgeführten Untersuchung waren (Ishiwata et al., 2002a).

Da in keiner der mit dem Hamamatsu SHR-2000 durchgeführten Untersuchung zur striatalen Rezeptorbindung eine Partialvolumenkorrektur vorgenommen wurde, wurden die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen konsistent unterschätzt. Wie schwer dieser Umstand wiegt, hängt jedoch von der Art der Fragestellung ab: werden Zwischengruppenvergleiche oder Vergleiche über die Zeit durchgeführt, wie es in sämtlichen Rezeptorbindungsstudien (Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998, Ogawa et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Umegaki et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a, b, Kawamura et al., 2003) der Fall war, sind die absoluten Bindungspotentialwerte zwar nicht korrekt, bleiben jedoch zwischen den einzelnen Versuchstieren vergleichbar, da der Recovery-Koeffizient als ein konstanter Faktor in die Berechnung des Bindungspotentials eingegangen wäre. Suzuki und Mitarbeiter untersuchten den Einfluss unterschiedlich großer Partialvolumeneffekte auf die gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen, indem sie die striatale Rezeptorbindung sechs und 24 Monate alter Ratten verglichen (Suzuki et al., 2001). Die Größe des Striatums unterschied sich lediglich geringfügig zwischen den Altersgruppen; mithin variiert die Recovery bei Tieren unterschiedlichen Alters in nur geringem Maße, wodurch die Partialvolumeneffekte bei einem Vergleich der Rezeptorbindung über die Altersgruppen vernachlässigbar werden.

Im übrigen bedarf in diesem Zusammenhang ein interessanter Befund besonderer Erwähnung: Umegaki und Mitarbeiter fanden als einzige mittels PET und *ex vivo* Autoradiographie quantitativ vergleichbare Werte (Umegaki et al., 2002). Es ist schwierig,

diesen Umstand zu erklären, da die Autoren nicht berichten, eine Partialvolumenkorrektur vorgenommen zu haben. Da jedoch in ihrer Studie die Definition der ROIs mit Hilfe von MRT-Bildern des Rattenkopfes (Hayakawa et al., 2000) erfolgte, ist es denkbar, dass dieses Verfahren eine exaktere Positionierung innerhalb striataler Anteile größeren Durchmessers erlaubte und auf diese Weise die Vergleichbarkeit von *in vivo* und *ex vivo* Ergebnissen erhöhte.

Hamamatsu SHR-7700 (s. Tab. I im Anhang). Die *in vivo* Untersuchungen 6-OHDA-lädierter Ratten zeigten eine Erhöhung der D₂-Rezeptorbindung und eine Reduktion der DAT-Bindung im ipsilateralen Neostriatum (Inaji et al., 2005). Diese Resultate entsprechen den mit PCR-I (Chen et al., 1997, Nguyen et al., 2000, Cicchetti et al., 2002), RATPET (Hume et al., 1996) und MicroPET (Rubins et al., 1999) erzielten Befunden. Die Bedeutung dieser Arbeit liegt in der Untersuchung des korrelativen Zusammenhanges zwischen einerseits DAT- und D₂-Rezeptorbindung und andererseits MAMPH- und APO-induziertem Drehverhalten. Dabei zeigten die PET-Untersuchungen zum einen eine dosisabhängige Reduktion der DAT-Bindung und zum anderen eine dosisabhängige Zunahme der D₂-Rezeptorbindung im ipsilateralen Neostriatum, welche letztere als kompensatorische Hochregulation der D₂-Rezeptoren interpretiert werden kann. Die D₂-Rezeptordichte steigt dabei mit der Größe der Läsion, die positiv mit der Ausprägung des 6-OHDA-induzierten Drehverhaltens korreliert. Die DAT-Dichte hingegen nimmt mit der Größe der Läsion ab und korreliert infolgedessen negativ mit der Anzahl der 6-OHDA-induzierten Drehbewegungen. Im Gegensatz zur dosisabhängigen Reduktion der DAT-Bindung jedoch führte die niedrigere 6-OHDA-Dosis zu keiner Zunahme der MAMPH-induzierten Drehungen; eine solche war erst nach Applikation der höheren Neurotoxindosis zu beobachten. Diese Diskrepanz resultierte in einer hyperbolischen Regressionsgeraden, die mit einem Korrelationskoeffizienten von 0.901 eine signifikante negative Korrelation anzeigte. Insgesamt zeigt dieser Befund, dass geringergradige Depletionen der präsynaptischen DAergen Innervation, die auf der Verhaltensebene noch keine funktionellen Beeinträchtigungen zeitigen, bereits *in vivo* durch eine deutliche Reduktion der ipsilateralen DAT-Bindung gekennzeichnet sind.

In dieser Studie wurde weder eine Spill-over- noch eine Partialvolumenkorrektur vorgenommen. Dies ist die Ursache dafür, dass die mit PET gemessene Erhöhung der D₂-Rezeptorbindung stärker ausgeprägt ist als die *in vitro* mit Autoradiographie bestimmte, während für die Erniedrigung der DAT-Bindung das Umgekehrte gilt. Dabei kann die *in vivo* im Vergleich

zur *in vitro* Bedingung erhöhte D₂-Rezeptorbindung auf Spill-over-Effekte zurückgeführt werden, während der Partialvolumeneffekt zu einer weiteren Unterschätzung der im ipsilateralen Striatum ohnedies reduzierten Radioaktivitätsakkumulation führt. In Anbetracht dessen ist die absolute Quantifizierung auch in dieser Studie konfundiert, während - wie in den mit dem PCR-I und dem RATPET durchgeführten Untersuchungen - die Vergleiche zwischen lädiertem und nicht-lädiertem Striatum valide bleiben.

RATPET (s. Tab. I im Anhang). Die *in vivo* Studien an Ratten mit unilateralen nigrostriatalen 6-OHDA-Läsionen zeigten eine Reduktion der ipsilateralen DAT-Dichte, die ihre Ursache in der Degeneration der präsynaptischen DAergen Neurone hat (Hume et al., 1996). Diese Befunde wurden durch spätere, mit dem PCR-I (Chen et al., 1997, Nguyen et al., 2000, Cicchetti et al., 2002), dem MicroPET (Rubins et al., 1999) und dem Hamamatsu SHR-77000 (Inaji et al., 2005) durchgeführte Untersuchungen bestätigt. Tiere mit vollständigen striatalen Läsionen zeigten eine komplette DAT-Depletion, während die Befunde bei Tieren mit subtotalen Läsionen inkonsistent waren (Opacka-Juffry et al., 1996). Da bei diesen Tieren bis zu 18 Tagen nach der Operation kein AMPH-induziertes Drehverhalten beobachtet werden konnte, waren die DAergen Läsionen offensichtlich nicht schwerwiegend genug, um langanhaltende Verhaltensdefizite hervor zu rufen. Dies stimmt mit neurochemischen Befunden überein, die eine ipsilaterale DAerge Depletion von lediglich 21% zeigten. Ebenso bestanden keine signifikanten Seitenunterschiede hinsichtlich der Anzahl TH-positiver Neurone in Substantia nigra oder ventraler tegmentaler Area. Aus dem Umstand, dass diese Ergebnisse früheren Befunden widersprachen, die mit der gleichen 6-OHDA-Dosis und gleichem Applikationsort (8 µg/4 µl in das Neostriatum; Przedborski et al., 1995) erzielt worden waren, schlossen die Autoren, dass das Modell der striatalen 6-OHDA-Läsion auf Grund seiner hohen Variabilität für die Darstellung von Neuroprotektion und neuroregenerativen Prozessen ungeeignet sei und kehrten in den nachfolgenden Untersuchungen zum nigrostriatalen 6-OHDA-Modell zurück. Untersuchungen zu möglichen neuroprotektiven und neuroregenerativen Behandlungsansätzen zeigten dabei einen Erhalt der präsynaptischen DAT-Bindung durch Vorbehandlung mit GDNF (Opacka-Juffry et al., 1995, Sullivan et al., 1998); dieser Befund zeigt, dass GDNF die DAergen Nervenendigungen gegen die neurotoxische Wirkung von 6-OHDA zu schützen vermag.

Striatale Transplantate bilden zahlreiche neuronale Verbindungen mit dem Wirtsgewebe aus, das Afferenzen aus Neokortex, Substantia nigra und Thalamus erhält und Efferenzen zum

Globus pallidus und zurück zur Substantia nigra entsendet (s. Übersichtsarbeit von Fricker-Gates et al., 2001). In einer ersten Studie an einem Rattenmodell für die Chorea Huntington konnte gezeigt werden, dass die Implantation fetaler Zellen in das Neostriatum die D₂-Rezeptorbindung auf der lädierten Seite erhöht (Torres et al., 1995). Dabei zeigten elektronenmikroskopische Studien, dass die synaptischen Interaktionen in den P-Zonen erfolgen, die - wie gemeinhin angenommen wird - das striatumähnliche Gewebe innerhalb der heterogenen Transplantate repräsentieren. Eine Möglichkeit, die Funktionalität der striatalen Transplantate zu verbessern, ist die Vergrößerung der P-Zonen durch die Verwendung jüngeren Gewebes; so beobachteten Fricker und Mitarbeiter, dass fetale Zellen von jüngeren Embryonen ein höheres regeneratives Potenzial aufweisen, wobei die so behandelten Tiere sowohl eine Erholung des Verhaltens als auch der D₁- und D₂-Rezeptorbindung zeigen (Fricker et al., 1997).

Mit Ausnahme zweier Studien, die die 5-HT_{1A}-Rezeptorbindung in frontalem Kortex, Cingulum, Hippokampus und Raphekernen (Hirani et al., 2000, Hume et al., 2001) zum Gegenstand haben, wurde in den mit dem RATPET durchgeführten Experimenten ausschließlich die Transporter/Rezeptorbindung im Neostriatum der Ratte untersucht. Hume und Mitarbeiter sprechen häufig das Problem der Partialvolumen- und Spill-over-Korrektur an (Hume et al., 1996, Myers et al., 1999). In ihrer ersten mit einem klinischen Scanner (Siemens ECAT-953B) durchgeführten Studie implementierten sie eine Spill-over-Korrektur (Hume et al., 1995), doch in keiner der hier vorgestellten Untersuchungen wurde eine Partialvolumenkorrektur durchgeführt. Zwischen den mit dem RATPET und mit einem Gammazähler nach *post mortem* Dissektion ermittelten striatozerebellären Quotienten bestand eine lineare Beziehung, obwohl sich die Werte um einen Faktor 5 unterschieden (Hume et al., 1996). In Anbetracht dessen ist die absolute Quantifizierung auch in den RATPET-Studien konfundiert. Hingegen bleiben - wie in den mit dem PCR-I und dem Hamamatsu SHR-7000 durchgeführten Untersuchungen - die Vergleiche zwischen lädiertem und nicht-lädiertem (Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997, Sullivan et al., 1998), transplantiertem und lädiertem (Torres et al., 1995, Fricker et al., 1997) und lädiertem und mit dem unmarkierten Liganden vorbehandeltem Striatum (Hume et al., 1996) valide. Dies gilt auch für die Studie zur Untersuchung des Einflusses von L-DOPA auf die D₂-Rezeptorbindung (Opacka-Juffry et al., 1998), da die Bindungsdaten nicht zwischen den Seiten verglichen sondern über beide Seiten gepoolt und zwischen den Behandlungsgruppen verglichen wurden.

HIDAC (s. Tab. I im Anhang). Le Masurier und Mitarbeiter beschrieben eine AMPH-induzierte Reduktion der striatalen D₂-Rezeptorbindung, wobei die Verabreichung einer tyrosinfreien Aminosäuremischung eine Verringerung dieser Reduktion zeitigte, ohne sie jedoch vollständig zu blockieren (Le Masurier et al., 2004). Der Befund einer AMPH-induzierten Reduktion stimmte mit den Ergebnissen früherer Studien überein, in denen PET mit *in vivo* Mikrodialyse kombiniert wurde (Hume et al., 1992, Houston et al., 2002). Überdies bestätigten die Kleintier-PET-Befunde frühere *in vivo* Mikrodialysestudien, die eine 50 bis 70%ige Reduktion der AMPH-induzierten Abnahme der D₂-Rezeptorbindung nach Verabreichung einer tyrosinfreien Aminosäuremischung beschrieben (Mc Tavish et al., 1999). Als Ursache der Manie wird eine Überaktivität des DAergen Systems angenommen; mithin legen diese Befunde eine Eignung der Tyrosindepletion für die Behandlung akuter Manie nahe.

In der Studie von Le Masurier und Mitarbeitern wurde weder eine Spill-over- noch eine Partialvolumenkorrektur vorgenommen (Le Masurier et al., 2004). Ihre Methode erwies sich als ungeeignet für die zuverlässige Detektion spezifischer D₂-Rezeptorbindung im Neokortex. Die Autoren beobachteten lediglich eine leichte Bindungsheterogenität im Tuberculum olfactorium und im frontalen Kortex und führten dies zum Teil auf Spill-over aus den Harderschen Drüsen zurück. Nichtsdestoweniger hatten bereits frühere Studien von Le Masurier und Mitarbeitern einen lediglich geringen Einfluss der Tyrosindepletion auf Katecholaminsynthese und c-fos-Expression in kortikalen Regionen gezeigt (Le Masurier et al., 2003).

MicroPET/MicroPET®R4 (s. Tab. I im Anhang). Untersuchungen an 6-OHDA-lädierten Ratten zeigten eine Reduktion der D₂-Rezeptor- und DAT-Bindung auf der Seite der Läsion (Rubins et al., 1999, s. Übersichtsarbeit von Phelps, 2000). Bei Huntington-Patienten und nicht-humanen Primatenmodellen für diese Erkrankung wurde ein reduzierter Glucoseverbrauch in beiden Striata und im zerebralen Kortex beobachtet (Young et al., 1986, Brownell et al., 1994). Dieser Befund wurde für das QA-Modell der Ratte bestätigt (Araujo et al., 2000). Überdies ergab die Studie von Araujo und Mitarbeitern, dass sich die Bindung von [¹⁸F]ESP an den D₂-Rezeptor zu der Zeit signifikant erhöhte, in der die [¹⁸F]FDG-Aufnahme durch eine Reduktion gekennzeichnet war (Araujo et al., 2000).

Untersuchungen der D₂-Rezeptorbindung vor und nach pharmakologischer Challenge mit AMPH und MP ergaben Reduktionen des Bindungspotentials gegenüber der Baseline (Schiffer et al., 2006). Dieses Ergebnis bestätigte frühere Befunde an Menschen (Volkow et al., 1994, 1999)

und nicht-humanen Primaten (Mach et al., 1997). Wie zusätzlich durchgeführte *in vivo* Mikrodialysestudien zeigten, gingen die Reduktionen der D₂-Rezeptorbindung mit Erhöhungen der extrazellulären DA-Konzentrationen einher (Schiffer et al., 1996). Dabei gingen Schiffer und Mitarbeiter von der Annahme aus, dass die Messung der D₂-Rezeptorbindung vor und nach pharmakologischer Challenge eine - wiewohl indirekte - Aussage über die Veränderung der DA-Konzentration im „synaptischen Kompartiment“ ermöglicht, während durch die Mikrodialyse sonde unmittelbar die DA-Konzentrationen im „extrazellulären Kompartiment“ abgegriffen wird. Für AMPH konnte eine lineare Beziehung zwischen „synaptischen“ und „extrazellulären“ Veränderungen der DA-Konzentration nachgewiesen werden (Laruelle et al., 1996, Breier et al., 1997). Aufgrund der unterschiedlichen Wirkweisen von einerseits AMPH und MP an der präsynaptischen und andererseits endogenem und exogenem Liganden an der postsynaptischen Endigung postulieren Schiffer und Mitarbeiter jedoch, dass die pharmakologisch induzierten Veränderungen der extrazellulären DA-Konzentration quantitativ nicht in jedem Falle exakt mit den Veränderungen der synaptischen DA-Konzentration übereinstimmen (Schiffer et al., 2006). Diese Hypothese wird durch ihren Befund belegt, der eine ähnliche Beeinflussung der synaptischen DA-Konzentration durch AMPH und MP, jedoch eine vierfach höhere Zunahme der extrazellulären DA-Konzentration nach Vorbehandlung mit AMPH zeigte (Schiffer et al., 2006).

In keiner der mit dem MicroPET durchgeführten Untersuchungen wurde eine Spill-over oder eine Partialvolumenkorrektur vorgenommen. Wie in den mit dem übrigen PET-Scannern durchgeführten Studien kann die absolute Quantifizierung auf Grund dieses Umstandes konfundiert sein. Untersuchungen des Glucosemetabolismus‘ an einem Rattenmodell für traumatische Gehirnverletzung haben gezeigt, dass die mit dem MicroPET erhaltenen LMRGlc-Werte die autoradiographisch ermittelten um 17% unterschreiten (Moore et al., 2000). Der Einfluss des Partialvolumeneffektes auf die gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen wurde in keiner Studie durch den Vergleich mit *ex vivo* Verfahren quantifiziert. Die Resultate bleiben jedoch valide, da entweder striatozerebelläre Quotienten zwischen lädierter und nicht-lädierter Seite (Rubins et al., 1999, Phelps, 2000, Araujo et al., 2000) oder Bindungspotentiale vor und nach pharmakologischer Intervention (Schiffer et al., 2006) verglichen wurden.

1.2.4.2. SPECT

Hoch-auflösendes Pinhole-SPECT (Universität Amsterdam; s. Tab. II im Anhang). Die Untersuchung der DAT-Bindung bei 6-OHDA-lädierten Ratten ergab eine Reduktion des ipsilateralen striatozerebellären Quotienten im Vergleich zur intakten kontralateralen Seite (Booij et al., 2002). Diese Daten stimmen mit den mit Kleintier-PETs erzielten Befunden überein (Hume et al., 1996, Chen et al., 1997, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Inaji et al., 2005). In der SPECT-Studie wurde weder eine Spill-over- noch eine Partialvolumenkorrektur vorgenommen.

Hoch-auflösendes Pinhole-SPECT (Universität Innsbruck; s. Tab. III im Anhang). Die Untersuchung der DAT-Bindung bei 6-OHDA-lädierten Ratten ergab auch hier eine Reduktion der ipsilateralen striatozerebellären V_3'' -Werte im Vergleich zur nicht-lädierten kontralateralen Seite und eine Reduktion gegenüber nicht-lädierten Kontrollen (Scherfler et al., 2002). Diese Daten stimmen sowohl mit den Pinhole-SPECT-Befunden der Universität Amsterdam (Booij et al., 2002) als auch mit den oben beschriebenen Kleintier-PET-Befunden überein (Hume et al., 1996, Chen et al., 1997, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Inaji et al., 2005).

Die Untersuchung der D₂-Rezeptorbindung bei QA-lädierten Ratten ergab eine Reduktion der ipsilateralen striatalen V_3'' -Werte im denervierten Striatum (Scherfler et al., 2005). Auch dieses Resultat stimmt mit dem mit Kleintier-PETs (Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, Araujo et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b) und dem Kleintier-SPECT der Universität Kuopio (Sohlberg et al., 2005) erzielten Befunden überein. Bei der Untersuchung sowohl der DAT- als auch der D₂-Rezeptorbindung erfolgte die ROI-Definition mit Hilfe von MRT-Koregistrierung. Es wurde weder eine Spill-over- noch eine Partialvolumenkorrektur vorgenommen.

Hoch-auflösendes Pinhole-SPECT (Universität Kuopio; s. Tab. II im Anhang). Die Untersuchung der D₂-Rezeptorbindung bei QA-lädierten Ratten ergab eine Reduktion der ipsi- zu kontralateralen striatalen Quotienten (Sohlberg et al., 2005). Dieses Resultat stimmt mit den sowohl mit Kleintier-PETs (Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, Araujo et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b) als auch mit dem Pinhole-SPECT der Universität Innsbruck (Scherfler et al., 2005) erzielten Befunde überein. Auch in dieser SPECT-Untersuchung wurde weder eine Spill-over- noch eine Partialvolumenkorrektur durchgeführt.

1.3. Herleitung der Fragestellungen

Zahlreiche *in vivo* Untersuchungen der DAT und D₂-Rezeptorbindung am Menschen haben gezeigt, dass neurologische und psychiatrische Erkrankungen wie Morbus Parkinson (Rinne et al., 1990, Hierholzer et al., 1992, Innis et al., 1993), MSA (Verhoeff et al., 1990), Schizophrenie (Wong et al., 1985), Depression (D'haenen & Bossuyt, 1994, Neumeister et al., 2001), ADHS (Dougherty et al., 1999) und Drogenmissbrauch (Volkow et al., 1994, 1997) mit Funktionsstörungen des DAergen Systems assoziiert sind. Fehlfunktionen der DAergen Neurotransmission können unter anderem auf Veränderungen in der synaptischen DA-Konzentration und in den Verfügbarkeiten der präsynaptischen Transporter- oder postsynaptischen Rezeptorbindungsstellen zurückzuführen sein. Zahlreiche *in vivo* Befunde legen dabei eine Beziehung zwischen der synaptischen Neurotransmitterkonzentration und der Dichte der prä- wie postsynaptischen Bindungsstellen nahe: so konnte bei Parkinsonpatienten gezeigt werden, dass die Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen zu einer Verringerung der endogenen DA-Konzentrationen führt, die ihrerseits eine Reduktion der striatalen DAT-Dichte (Innis et al., 1993) und eine kompensatorische Hochregulation der postsynaptischen D₂-Rezeptorbindungsstellen induziert (Rinne et al., 1990). Dies gilt für die Frühphase der Erkrankung; im fortgeschrittenen Stadium wird auch eine postsynaptische Reduktion der Bindungsstellen augenfällig (Hierholzer et al., 1992). Das Ineinandergreifen prä- und postsynaptischer Regulationsmechanismen erhellt ebenso aus Untersuchungen an depressiven Patienten, die eine Abnahme des DAT- (Neumeister et al., 2001) und eine Zunahme der D₂-Rezeptorbindung zeigten (D'haenen & Bossuyt, 1994). Ein weiteres Beispiel ist die Wirkung des synaptischen DAs auf die postsynaptische D₂-Rezeptorbindung nach Challenge mit Stimulanzien wie MP, die eine Erhöhung der DA-Konzentration im synaptischen Spalt und auf diese Weise eine Verringerung der verfügbaren D₂-Rezeptoren induzieren (Volkow et al., 1994).

Die meisten der an Kleintieren durchgeführten *in vivo* Untersuchungen wurden an Rattenmodellen für neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Parkinson und Morbus Huntington durchgeführt und hatten die Darstellung der DAT- (Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, Hume et al., 1996, Sullivan et al., 1998, Brownell et al., 1998, Chen et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Björklund et al., 2002, Cicchetti et al., 2002, Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, Inaji et al., 2005) oder D₂-Rezeptorbindung (Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, Fricker et al.,

1997, Araujo et al., 2000, Nguyen et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b, Scherfler et al., 2005, Inaji et al., 2005, Sohlberg et al., 2005) bei lädierten und nicht-lädierten Tieren mit dedizierten PET-Scannern (Torres et al., 1995, Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997, Sullivan et al., 1998, Brownell et al., 1998, Chen et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Araujo et al., 2000, Björklund et al., 2002, Cicchetti et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a,b, Inaji et al., 2005) oder aufgerüsteten klinischen SPECT-Kameras zum Gegenstand (Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, 2005, Sohlberg et al., 2005). In lediglich zwei Studien wurden DAT- und D₂-Rezeptorbindung nach 6-OHDA-Läsion an denselben Tieren untersucht, wobei die Ergebnisse eine Abnahme der ersteren und eine Zunahme der letzteren zeigten (Nguyen et al., 2000, Inaji et al., 2005). Bis zu dem Zeitpunkt, da die hier beschriebenen Untersuchungen geplant wurden, waren auch noch keine *in vivo* Studien durchgeführt worden, die die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen synaptischem DA und der prä-/postsynaptischen Transporter-/Rezeptorbindung im Striatum der Ratte zum Inhalt hatten. Entsprechend hatten auch keine *in vivo* Untersuchungen der prä-/postsynaptischen Transporter-/Rezeptorbindung nach pharmakologischen Interventionen stattgefunden, die eine Inhibierung des DAT oder des D₂-Rezeptors zum Ziel hatten.

Abb. 2 zeigt ein Schema der DAergen Synapse. Unser Ziel ist die Entwicklung eines quantitativen Modells für die prä- und postsynaptischen Bindungsstellen im Striatum der Ratte. Die im Folgenden beschriebenen Arbeiten zu den Regulationsmechanismen der DAergen Synapse stellen die ersten wichtigen Schritte in diese Richtung dar und haben zunächst die Quantifizierung der D₂-Rezeptor- und der DAT-Verfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte zum Gegenstand. Es folgt die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach 6-OHDA-induzierter Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen und Reduktion der synaptischen DA-Konzentration, die Quantifizierung der DAT-Verfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit MP, die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit HAL, die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit MP sowie die Quantifizierung der DAT-Verfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit HAL.

Die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit erfolgte mit TierPET (Weber et al., 1997) sowie TierSPECT (Schramm et al., 2000, Wirrwar et al., 2005); als Radioliganden wurden

[¹⁸F]1[3-(4'Fluorobenzoyl)propyl]-4-(2-keto-3-methyl-1-benzimidazoliny)piperidin ([¹⁸F]FMB) oder [¹²³I]IBZM eingesetzt. Die Untersuchungen zur DAT-Verfügbarkeit wurden mit dem TierSPECT und [¹²³I]FP-CIT als Radioligand durchgeführt. Da es sich bei TierPET und TierSPECT um neue bildgebende Systeme handelte, waren vor Beginn der inhaltlichen Studien zur D₂-Rezeptor- und DAT-Verfügbarkeit methodische Untersuchungen erforderlich, die die Validierung dieser Scanner für die Durchführung der beabsichtigten Rezeptor- und Transporterbindungsstudien im Striatum der Ratte zum Inhalt hatten. Es folgt die Herleitung der einzelnen Fragestellungen für die mit beiden Kameras durchgeführten methodischen und inhaltlichen Untersuchungen.

1.3.1. Geräteevaluierung

Bislang wurden mit sechs Kleintier-PET-Systemen (s. Tab. I im Anhang) D₂-Rezeptorbindungsstudien durchgeführt (PCR-I: Nguyen et al., 2000; Hamamatsu SHR-2000: Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998, Ogawa et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Umegaki et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a,b; Hamamatsu SHR-7700: Inaji et al., 2005; RATPET: Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997b, Opacka-Juffry et al., 1998; MicroPET: Rubins et al., 1999, Araujo et al., 2000; quad-HIDAC: Le Masurier et al., 2004). In einer weiteren Arbeit (Hume et al., 1995) wurde zudem ein klinischer PET-Scanner (Siemens ECAT-953B) verwendet. Dabei wurde in mehreren Arbeiten auf die mögliche Beeinflussung der im Neostriatum gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen durch Partialvolumen- und Spill-over-Effekte hingewiesen (Kuge et al., 1992, Hume et al., 1996, Fukuyama et al., 1998, Ishiwata et al., 1999, 2002a). Als Fragestellungen für die erste der mit dem TierPET durchgeführten Studien ergaben sich damit:

- I. In welchem Ausmaß wird die absolute Quantifizierung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen beim TierPET durch Partialvolumeneffekt und Spill-over aus der Harderschen Drüse konfundiert?
- II. Wie gut ist die Übereinstimmung zwischen den mit dem TierPET und einer

Referenzmethode (Storage-Phosphor-Autoradiographie) gemessenen striatalen Radioaktivitätskonzentrationen?

In den bislang mit PET durchgeführten D₂-Rezeptorbindungsstudien wurden [¹¹C]Racloprid (Hume et al., 1995, Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997b, Opacka-Juffry et al., 1998, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Ogawa et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Umegaki et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a,b, Le Masurier et al., 2004, Inaji et al., 2005), [¹¹C]MSP (Maggos et al., 1998, Ogawa et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a), [¹¹F]ESP (Araujo et al., 2000) und [¹¹C]Nemonaprid (Ogawa et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a) als Radioliganden verwendet. In diesen Studien erfolgte die Auswertung durch die Bestimmung der Radioaktivität als Prozentsatz der pro Gewebevolumen injizierten Radioaktivitätsdosis (Ogawa et al., 2000) sowie durch Anwendung dynamischer (Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998), non-invasiv graphischer (Nguyen et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Le Masurier et al., 2004) und vereinfachter Referenzgewebe-Modelle (Torres et al., 1995, Hume et al., 1995, 1996, Fricker et al., 1997b, Opacka-Juffry et al., 1998, , Araujo et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b, Umegaki et al., 2002, Inaji et al., 2005). Wie in Kapitel 1.2.1.3.7. dargestellt, liefern diese Methoden einen Schätzwert für BP; die für die präklinische Evaluierung neuer Radioliganden wichtige separate Bestimmung der Rezeptorparameter K_D und B_{max} ist jedoch *in vivo* nicht möglich.

Uns stand mit [¹⁸F]FMB ein neuer D₂-Rezeptorligand zur Verfügung, der bislang lediglich an nicht-humanen Primaten eingesetzt wurde (Moerlein et al., 1992a, 1997a,b). Dabei hatten *in vitro* Sättigungsbindungsstudien eine Inhibitionskonstante (K_i) von 3.6 nM für den D₂-Rezeptor ergeben. Die *in vitro* Bestimmung von K_D und B_{max} für den striatalen D₂-Rezeptor der Ratte stand bis *dato* aus. Mithin lautete die nächste Fragestellung:

III. Welche K_D- und B_{max}-Werte ergibt die *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse für den striatalen D₂-Rezeptor der Ratte?

Die spezifische Aktivität ist in Routinesynthesen beträchtlichen Schwankungen unterworfen. Für unsere *in vivo* Untersuchungen wurden insgesamt 16 [¹⁸F]FMB-Synthesen durchgeführt; dabei wurden spezifische Aktivitäten zwischen 3.56 und 153.66 TBq/mmol

erreicht. Da mit der spezifischen Aktivität auch die Menge des „kalten“ FMBs variiert, das mit dem radioaktiv markierten [^{18}F]FMB um die vorhandenen Bindungsstellen kompetitiert, ist es naheliegend, das Prinzip der *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse auch auf *in vivo* Studien anzuwenden. Damit ergab sich als nächste Fragestellung:

IV. Können K_D und $B_{\max}$ *in vivo* analog zur *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse bestimmt werden?

Mit dem TierSPECT wurde im Jahre 2000 eine neue, dedizierte Kleintierkamera vorgestellt (Schramm et al., 2000, Wirrwar et al., 2005a). Gegenstand unserer ersten Studie war eine methodische Untersuchung, die die Evaluierung dieses Scanners für die Durchführung von DAT- und D_2 -Rezeptorbindungsstudien im Striatum der Ratte zum Ziel hatte.

Bis *dato* wurde erst eine DAT-Bindungsstudie an der Ratte mit [^{123}I]FP-CIT als Radioligand durchgeführt (Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam; Booij et al., 2002). Darüberhinaus wurde die DAT-Bindung mit einer weiteren aufgerüsteten klinischen Kamera (Siemens Orbiter ZLC 3700; s. Tab. II im Anhang) und [^{123}I]β-CIT als Radioligand untersucht (Scherfler et al., 2002); in zwei weiteren Studien mit aufgerüsteten SPECT-Kameras wurde überdies die D_2 -Rezeptorbindung bei der Ratte mit [^{123}I]IBZM beziehungsweise [^{123}I]Epidoprid als Radioligand dargestellt (Scherfler et al., 2005, Sohlberg et al., 2005; s. Tab. III im Anhang). Ferner existieren drei Studien an Mäusen, die Untersuchung der DAT- und der D_2 -Rezeptorbindung mit [^{99m}Tc]TRODAT und [^{123}I]FP-CIT beziehungsweise [^{123}I](S)-5-Iodo-7-N-[(1-ethyl-2-pyrrolidinyl)methyl]-carboxamido-2,3-dihydrobenzofuran ([^{123}I]IBF) zum Gegenstand hatten (Acton et al., 2002a, b, Adringa et al., 2005). Diese Untersuchungen wurden mit einer aufgerüsteten klinischen Prism 3000XP (Acton et al., 2002a, b; s. Tab. III im Anhang) beziehungsweise dem Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam (Adringa et al., 2005; s. Tab. II im Anhang)) durchgeführt.

Da auch das Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam auf einem aufgerüsteten klinischen Scanner (ADAC ARC3000) basiert (Habraken et al., 2000; s. Tab. II im Anhang), bestand das Ziel der ersten Studie darin, zu zeigen, dass DAT- und D_2 -Rezeptorbindung im Striatum der Ratte mit der völlig anders konfigurierten TierSPECT-Kamera (Kristalldicke: 3 mm statt 9.5 mm, Kollimation: Parallelloch- statt Pinholekollimation, Auslesung: ein statt vieler

PMTs, Rekonstruktion: OSEM statt FBP) trotz der schlechteren Performance (Auflösung: 2.8 statt 1.34 mm, Sensitivität: 22 statt 735 cps/MBq) reliabel dargestellt und quantifiziert werden können.

Die vorausgegangenen Studien mit dem TierPET haben gezeigt, dass die Identifikation des Striatums durch Radioaktivitätsakkumulationen in anderen paarigen Regionen des Kopfes, wie etwa den Harderschen Drüsen, konfundiert sein kann. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn neue Radioliganden evaluiert werden, deren Verteilungsmuster unbekannt sind. Schwierigkeiten entstehen überdies dann, wenn die Transporter- oder Rezeptorbindung nach Läsion oder unter pharmakologischer Blockade – mithin im Zustand beabsichtigter Minderanreicherung - quantifiziert werden soll. Außerdem sind Regionen wie das Zerebellum, das gemeinhin als REF verwendet wird, durch eine so geringe DAT- und D₂-Rezeptordichte gekennzeichnet, dass ihre exakte Eingrenzung problematisch ist. Da die reliable Quantifizierung des BPs von der sorgfältigen Definition sowohl der ROIs als auch der REFs abhängt, wurde eine Methode entwickelt, die die Lokalisierung der ROIs und REFs mittels quasi-anatomischer Landmarken erlaubt. Als Fragestellungen für die erste der mit dem TierSPECT durchgeführten Untersuchungen ergaben sich damit:

- V. Können die intrazerebralen [¹²³I]FP-CIT- und [¹²³I]IBZM-Akkumulationen sowohl ohne pharmakologische Intervention als auch nach Blockade der DAT- und D₂-Rezeptorbindung mit dem TierSPECT unter Anwendung der neuen Lokalisationsmethode quantifiziert werden?
- VI. Stimmen die BPs mit den aus der Literatur bekannten Werten für [¹²³I]FP-CIT und [¹²³I]IBZM überein?

1.3.2. Untersuchungen zu den Regulationsmechanismen der dopaminergen Synapse

Ein Modell für die Parkinsonsche Krankheit ist die Zerstörung der nigrostriatalen Faserverbindungen der Ratte durch unilaterale Injektion von 6-OHDA in die Pars compacta der Substantia nigra (s. Übersichtsarbeiten von Schwarting & Huston, 1996a,b). Wird ein bestimmter

Grad DAerger Denervierung erreicht, kommt es zu einer Reduktion der TH-Aktivität in den präsynaptischen Endigungen; entsprechend vermindert sich die DA-Konzentration im synaptischen Spalt und – als kompensatorische Antwort hierauf – die DA-Wiederaufnahme in die präsynaptischen Vesikel (Iversen & Uretsky, 1970). Eine weitere Folge der DAergen Denervation ist die Zunahme der neostriatalen D₂-Rezeptoren auf der Seite der Läsion, die sich innerhalb der ersten Tage nach 6-OHDA-Applikation entwickelt und ihr Maximum nach zwei Wochen erreicht (Ungerstedt, 1991, Staunton et al., 1981, Neve et al., 1982, 1984). Solch ein Anstieg der D₂-Rezeptordichte ohne eine gleichzeitige Veränderung der Affinität wurde von Ferré und Fuxe auch *in vitro* im kontralateralen Striatum unilateral lädierter Ratten beobachtet (Ferré & Fuxe, 1992). Eine Beteiligung der Gegenseite an den nach der Läsion einsetzenden Erholungsprozessen wird außerdem durch neurochemische Befunde nahe gelegt, die eine bilaterale Zunahme des DA-Metabolismus' im Nuc. accumbens 6-OHDA-lädierter Ratten zeigen (Nikolaus et al., 1997).

Die bislang an 6-OHDA-lädierten Ratten durchgeführten Rezeptorbindungsstudien zeigten sämtlich eine Erhöhung der ipsilateralen D₂-Rezeptorbindung (Hume et al., 1995, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Inaji et al., 2005), während sich die kontralaterale D₂-Rezeptorbindung nicht signifikant von nicht-lädierten Kontrolltieren unterschied (Hume et al., 1995). Entsprechend wurde nach unilateraler OHDA-Läsion auch eine lediglich ipsilaterale Reduktion der DAT-Bindung berichtet (Hume et al., 1995, Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, Chen et al., 1997, 1999, Brownell et al., 1998, Sullivan et al., 1998, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Björklund et al., 2002, Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, Inaji et al., 2005). Dabei muss jedoch beachtet werden, dass lediglich in der von Hume und Mitarbeitern durchgeführten Studie die kontralaterale D₂-Rezeptorbindung mit der D₂-Rezeptorbindung in nicht-lädierten Kontrolltieren verglichen wurde (Hume et al., 1995). Überdies wurden keine Longitudinaluntersuchungen der ipsi- und kontralateralen D₂-Rezeptorbindung an denselben Tieren durchgeführt. Dies gilt ebenso für den Vergleich der D₂-Rezeptorbindung vor und nach der 6-OHDA-Läsion. Damit ergaben sich als nächste Fragestellungen:

- VII. Welche Veränderungen induziert die unilaterale nigrostriatale 6-OHDA-Läsion in der ipsi- und kontralateralen striatalen D₂-Rezeptorbindung der Ratte?
- VIII. Welchen zeitlichen Verlauf zeigen diese Veränderungen?

In vivo Untersuchungen bei ADHS-Patienten haben Veränderungen in der striatalen DAT-Dichte gezeigt (Dougherty et al., 1999, Dresel et al., 2000, Krause et al., 2000, Cheon et al., 2003, Larisch et al., in Druck). Es wird allgemein angenommen, dass der therapeutische Effekt von MP durch die Blockierung des präsynaptischen DATs mediiert wird, die ihrerseits eine Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration zur Folge hat (s. Übersichtsarbeit von Volkow et al., 2002). Entsprechend konnte nach Langzeitbehandlung mit MP eine Reduktion der DAT-Bindung sowohl bei Patienten mit ADHS (Dresel et al., 2000, Krause et al., 2000) als auch bei normalen Kontrollen (Volkow et al., 1998) nachgewiesen werden. Überdies zeigten Dissektionsstudien eine dosisabhängige Inhibierung der striatalen [^{99m}Tc]TRODAT- (Dresel et al., 1998) und [^{123}I]FP-CIT-Bindung (Reneman et al., 2001) bei der Ratte. Bislang wurde die Wirkung von MP auf die [^{123}I]FP-CIT-Bindung weder im Human- noch im Tierversuch *in vivo* dargestellt. Überdies steht die *in vivo* Untersuchung der Dosis-Wirkungsbeziehung aus. Somit ergaben sich als nächste Fragestellungen:

- IX. Kann die striatale und kortikale DAT-Blockade durch MP mit dem TierSPECT quantifiziert werden?
- X. Erlaubt das TierSPECT die Darstellung einer diesbezüglichen Dosis-Wirkungsbeziehung?

Bei Schizophreniepatienten wird häufig die D₂-Rezeptorbesetzung durch Neuroleptika dargestellt (s. Übersichtsarbeit von Kasper et al., 2002). Bislang wurde jedoch erst eine bildgebende Untersuchung zur Wirkung von HAL auf die D₂-Rezeptorbindung bei Tieren durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein Verdrängungsexperiment an nicht-humanen Primaten, bei der HAL nach [^{123}I]IBZM-Applikation verabreicht wurde (Innis et al., 1992). Die *in vivo* Darstellung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit *nach* Blockade des D₂-Rezeptors mit HAL im Tierversuch steht bis *dato* aus.

Weiterhin wurde gezeigt, dass bildgebende Verfahren eingesetzt werden können, um akute Fluktuationen in der synaptischen DA-Konzentration darzustellen (s. Übersichtsarbeit von Laruelle, 2000). Wie zuvor erwähnt, bindet MP an den DAT und erhöht auf diese Weise die DA-Konzentration im synaptischen Spalt. Booij und Mitarbeiter waren die ersten, die die Verdrängung von [^{123}I]IBZM durch endogenes DA nach Applikation von MP im Humanversuch

zeigten (Booij et al., 1997). Die Untersuchung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit *nach* Erhöhung der endogenen DA-Konzentration in Human- oder Tierversuch stand bis *dato* aus. Mithin ergaben sich als nächste Fragestellungen:

- XI. Kann die Konkurrenz zwischen [¹²³]IBZM und dem exogenen Liganden HAL um die striatalen D₂-Rezeptorbindungsstellen der Ratte mit dem TierSPECT quantifiziert werden?
- XII. Ist diese Quantifizierung auch für die Konkurrenz zwischen [¹²³]IBZM und endogenem DA möglich?
- XIII. Können Veränderungen der synaptischen DA-Konzentration auf der Grundlage der veränderten D₂-Rezeptorbindung abgeschätzt werden?

Neuroleptika wie HAL erhöhen Synthese, Metabolismus und Freisetzung von DA im Neostriatum und verwandten mesolimbischen Strukturen (Carlsson & Lindqvist, 1963, Imperato & Di Chiara, 1985, Zetterström et al., 1984, Moghaddam & Bunney, 1990, Pehek & Yamamoto, 1994, Pehek et al., 1999, Garriss et al., 2003). Ebenso stimulieren diese Substanzen die elektrische Aktivität DAerger Neuronen (Bunney et al., 1973, Chiodo & Bunney, 1983).

Die erwähnten neuroleptikainduzierten Veränderungen werden in der Literatur durch drei unterschiedliche Mechanismen erklärt: zum einen kann die Steigerung der elektrischen Aktivität DAerger Neurone eine Zunahme der Neurotransmitterfreisetzung induzieren (Imperato & Di Chiara, 1985). Ursprünglich dachte man, dass dieser Mechanismus durch die Blockade der postsynaptischen D₂-Rezeptoren und indirekte striatonigrale Feedback-Schleifen mediert wird (Bunney et al., 1973, Carlsson & Lindqvist, 1963, Carlsson, 1975); spätere Studien erbrachten jedoch keinerlei Nachweis für die Existenz solcher neuronaler Verbindungen (Di Chiara et al., 1977). Als weiterer möglicher Wirkmechanismus wird die Blockade von D₂-Autorezeptoren diskutiert, die auf den DAergen Zellkörpern lokalisiert sind und die die elektrische Aktivität der DAergen Neurone modifizieren könnten, ohne dass eine Notwendigkeit für die Beteiligung interneuronaler Faserverbindungen besteht (Groves et al., 1975). Eine dritte Erklärung ist eine Blockade von präsynaptisch auf den DA ergen Nerven terminalen lokalisierten D₂-Autorezeptoren (Kehr et al., 1972, Pehek & Yamamoto, 1994, Westerink & de Vries, 1989, Santiago & Westerink, 1991), die die normale Feedback-Hemmung inhibiert und auf diese Weise zu einer

Steigerung der DA-Synthese und/oder -Freisetzung führt. Nachdem die Läsionsstudien von Westerink und de Vries zeigten, dass Ratten mit striatalen - mithin postsynaptisch lokalisierten - KA-Läsionen einen nicht-lädierten Tieren vergleichbaren Anstieg der endogenen DA-Konzentration aufwiesen, liegt die Schlussfolgerung nahe, dass die Blockade der präsynaptischen D₂-Autorezeptoren den einzigen Mechanismus darstellt, über den der neuroleptikainduzierte Anstieg der endogenen DA-Konzentration mediert wird (Westerink & de Vries, 1989).

In früheren Untersuchungen wurde die direkte Kompetiton eines Radioliganden mit HAL oder seine Verdrängbarkeit durch HAL von der DAT-Bindungsstelle untersucht; als Radioliganden fanden hierbei [^{99m}Tc]TRODAT (Kung et al., 1997), [¹²³I]FP-CIT (Lavalaye et al., 2000), [³H]CFT (Scheffel et al., 1996) oder sein Analogon [¹²⁵I]3ß-(4-iodophenyl)-tropan-2ß-carboxylsäuremethylester ([¹²⁵I]RTI-55; Cline et al., 1992) Verwendung. Ferner wurde in einer *in vivo* Studie an Schweinen die Wirkung der HAL-induzierten Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration auf die postsynaptische D₂-Rezeptorbindung untersucht (Ishizu et al., 2000). Die direkte oder indirekte Darstellung der HAL-Bindung an die präsynaptischen D₂-Autorezeptoren mit bildgebenden Methoden steht bis *dato* aus; dies gilt ebenso für die Wirkung der HAL-induzierten Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration auf die präsynaptische DAT-Bindung.

Nachdem in den vorangegangenen TierSPECT-Studien die Wirkung von MP auf die DAT-Bindung, die Wirkung von HAL auf die D₂-Rezeptorbindung und die Wirkung erhöhter endogener DA-Konzentrationen auf die D₂-Rezeptorbindung untersucht wurde, ergeben sich nun als letzte Fragestellungen:

- XIV. Kann die autorezeptormediierte Wirkung von HAL auf die endogene DA-Konzentrationen im Striatum der Ratte mit dem TierSPECT dargestellt werden?
- XV. Kann die Kompetition zwischen [¹²³I]FP-CIT und endogenem DA um die DAT-Bindungsstellen *in vivo* quantifiziert werden?

2. Experimenteller Teil

2.1. Geräteevaluierung

2.1.1. *In vivo* Quantifizierung der striatalen D₂-Rezeptoren mit dem TierPET und Storage-Phosphor-Autoradiographie – eine Validierungsstudie mit [¹⁸F]N-Methylbenperidol¹

2.1.1.1. Einleitung

Das TierPET wurde in Zusammenarbeit zwischen dem Zentrallabor für Elektronik (Forschungszentrum Jülich GmbH) und der Nuklearmedizinischen Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf entwickelt und 1997 vorgestellt (Weber et al., 1997). Die hier beschriebene erste mit dem TierPET durchgeführte *in vivo* Untersuchung hatte die Validierung der Kamera für die Durchführung von D₂-Rezeptorbindungsstudien an der Ratte zum Inhalt (Nikolaus et al., 2001).

Benperidol (Abb. 3) ist ein D₂-Rezeptorantagonist aus der Familie der Butyrophenone, der als antipsychotische Droge klinische Verwendung findet (Krendal & Kudrin, 1975). Wie auch das Benzamid Racloprid hat Benperidol gegenüber den Spiperonanaloga ESP und MSP den Vorteil einer höheren D₂-Rezeptorselektivität und bindet nicht an 5-HT₂-Rezeptoren (Moerlein et al., 1992a). Überdies konnte gezeigt werden, dass 4 mg/kg des spezifischen D₂-Liganden Eticloprid die Aufnahme von [¹⁸]FMB in das Striatum zu blockieren vermögen, während die Applikation des 5HT₂-Antagonisten Ketanserin keinerlei Wirkung auf die striatale [¹⁸]FMB-Aufnahme zeitigt (Moerlein et al., 1997b). Im Gegensatz zu Racloprid ist Benperidol jedoch dadurch gekennzeichnet, dass es durch synaptisches DA nicht kompetitiv verdrängbar ist, wie aus der Tatsache folgt, dass die intravenöse Verabreichung von AMPH keine Verringerung der D₂-Rezeptorbindung induziert (Moerlein et al., 1997b).

Diese Eigenschaften legten eine Eignung des Benperidols als D₂-Radioligand nahe; es folgte die Synthese verschiedener ¹¹C- (Suehiro et al., 1990), ⁷⁵Br- (Moerlein et al., 1986) und ¹⁸F-markierter Benperidolanaloga (Arnett et al., 1985, Moerlein et al., 1992b, c) und ihre

¹ Durchführung des Experimentes: Dezember 1999 - März 2000; Erstpublikation: November 2001.

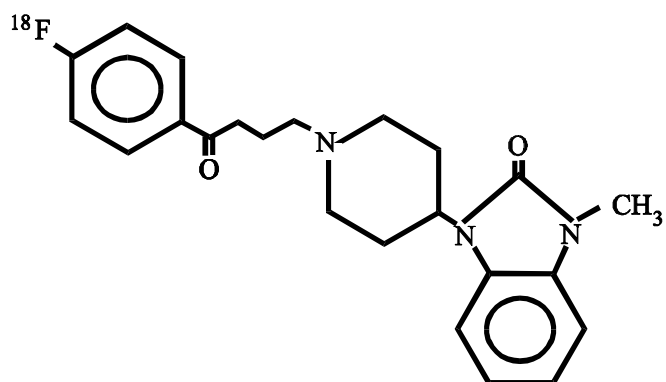
Evaluierung als potentielle PET-Radiotracer. Die hier vorgestellte TierPET-Validierungsstudie wurde mit dem ^{18}F -markierten Analogon [^{18}F]FMB (Moerlein et al., 1992a) durchgeführt.

Die Clearance von [^{18}F]FMB aus dem Blut erfolgt rasch; bereits fünf Minuten nach Applikation sind 50% der injizierten Dosis aus dem Blut entfernt (Moerlein et al., 1997b). Dreißig Minuten nach Applikation werden die höchsten Radioaktivitätskonzentrationen in Leber und Lunge gemessen (Moerlein et al., 1997c); nach drei Stunden werden maximale Konzentrationen in Gallenblase und unterem Intestinum erreicht. Mithin erfolgt in diesem Zeitraum die hepatische Metabolisierung, die Konzentrierung der Abbauprodukte in der Gallenblase und die Ausscheidung über den Darm. Bei nicht-humanen Primaten beträgt die ins Gehirn aufgenommene Menge etwa 0.4% der injizierten Dosis (Moerlein et al., 1997c). Nach 30 Minuten liegen im Blut nur etwa 10% der Gesamtradioaktivität in Form des intakten Radioliganden vor. Chromatographische Untersuchungen zeigten dabei, dass lediglich polare Metaboliten entstehen, die die Blut-Hirn-Schranke nicht zu übertreten vermögen (Moerlein et al., 1997b). Der Metabolismus des unmarkierten Benperidols legt nahe, dass p-[^{18}F]Fluorohippursäure und p-[^{18}F]Fluorobenzoessäure die wichtigsten Abbauprodukte von [^{18}F]FMB darstellen (Soudijn et al., 1967).

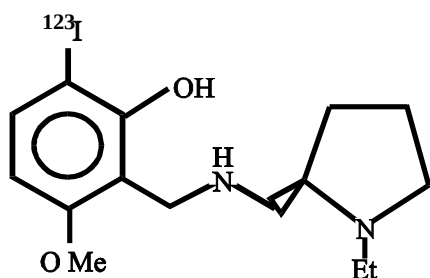
Das Equilibrium der [^{18}F]FMB-Bindung wird im Striatum des Affen etwa 20 Minuten nach Applikation erreicht (Moerlein et al., 1997b); das Nämliche wurde für [^{11}C]CMB im Striatum der Maus gezeigt (Suehiro et al., 1990); das Verhältnis zwischen spezifischer und nicht-spezifischer Bindung bleibt über die folgenden drei Stunden konstant (Moerlein et al., 1997b).

Ziel unserer Untersuchung war die Quantifizierung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen mit dem TierPET und einer Referenzmethode; als solche diente die Storage-Phosphor-Autoradiographie, die eine im Vergleich zur konventionellen Film-Autoradiographie erhöhte Sensitivität sowie eine über einen größeren Bereich lineare Dosis-Wirkungsbeziehung aufweist (Ito et al., 1995). Wie in Kapitel 1.2.1.3.3. ausgeführt, wurde in verschiedenen Studien auf die Problematik des Partialvolumen- und des Spill-over-Effektes hingewiesen (Kuge et al., 1992, Hume et al., 1996, Fukuyama et al., 1998, Ishiwata et al., 1999, 2002a). Weiteres Ziel des Experimentes war daher die Quantifizierung des Einflusses von Partialvolumeneffekt und Spill-over aus der Harderschen Drüse auf die mit dem TierPET gemessenen striatalen Radioaktivitätskonzentrationen.

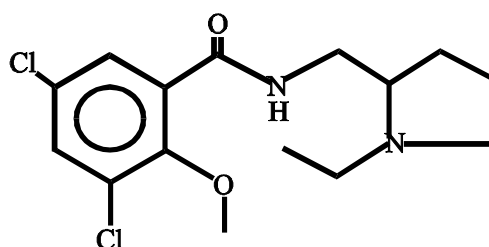
[¹⁸F]FMB



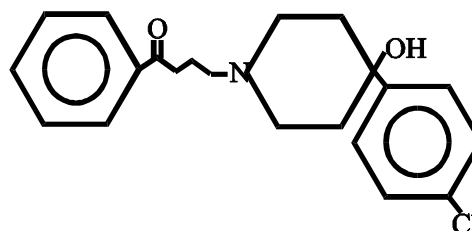
[¹²³I]BZM



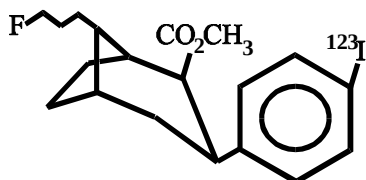
Racloprid



Haloperidol



[¹²³I]FP-CIT



Methylphenidat

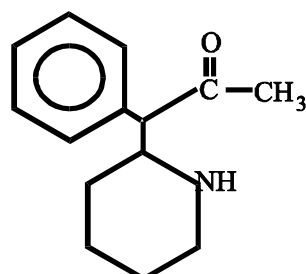


Abb. 4. Strukturformeln wichtiger D₂-Rezeptor- und DAT-Liganden

2.1.1.2 Methode

2.1.1.2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten zehn männliche Sprague-Dawley-Ratten (Charles River Laboratories, L'Arbresle, Frankreich) mit einem Gewicht zwischen 350 und 500g. Die Experimente wurden in Übereinstimmung mit dem Deutschen Tierschutzgesetz im Institut für Medizin (Forschungszentrum Jülich GmbH) durchgeführt und von der Bezirksregierung Köln genehmigt.

2.1.1.2.2. Radiochemie

[¹⁸F]FMB wurde vom Institut für Nuklearchemie (Forschungszentrum Jülich GmbH) zur Verfügung gestellt. Die Synthese erfolgte nach dem Verfahren von Moerlein und Mitarbeitern (Moerlein et al., 1992a). Die nukleophile aromatische Fluorinierung mittels Substituierung der O₂N-Gruppe durch ¹⁸F wurde durchgeführt, wie für den Butyrophenonliganden [¹¹F]MSP beschrieben (Hamacher & Hamkens, 1995). [¹⁸F]FMB wurde für die intravenöse Applikation in 0.9% NaCl (10% Ethanol) gelöst. Die Untersuchung mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ergab eine radiochemische Reinheit > 98%. [¹⁸F]FMB wird rasch in der Peripherie metabolisiert; dabei zeigt die chromatographische Analyse, dass lediglich polare Metaboliten gebildet werden, die nicht über die Blut-Hirn-Schranke treten (Moerlein et al., 1997b). Die spezifische Aktivität zum Zeitpunkt der Injektion betrug im Median 19.68 TBq/mmol (Reichweite: > 3.56 bis > 153.66 TBq).

2.1.1.2.3. Kamera

Das TierPET (Abb. 5) wurde in Zusammenarbeit zwischen dem Zentrallabor für Elektronik (Forschungszentrum Jülich GmbH) und der Nuklearmedizinischen Klinik (Universitätsklinikum Düsseldorf) entwickelt. Die Kamera besteht aus vier planaren, orthogonal angeordneten, pixellierten, Ce-dotierten YAP(Ce)-Blockdetektoren, wobei jeder Detektor mit dem ihm gegenüberliegenden in Koinzidenz geschaltet ist (Weber et al., 1997, 1999, 2000). Die Detektorpaare rotieren um das Tier. Jeder Detektor weist 20 x 20 YAP(Ce)-Kristalle auf. Die Signalauslesung erfolgt mit einem PS-PMT (Hamamatsu R2487) pro Detektor. Die Auflösung des TierPETs beträgt 2.1 mm FWHM; die Sensitivität erreicht 3.24 cps/kBq für einen Zentrum-

Detektor-Abstand von 80 mm. Das FOV hat einen Durchmesser von 40 mm.

Auf die in x-, y- und z-Richtung bewegliche Objektauflage wurde ein Kopfhalter (Institut für Medizin, Forschungszentrum Jülich GmbH) geschraubt, der die reproduzierbare Positionierung des Tieres im FOV erlaubt. Um die Detektion zufälliger Koinzidenzen infolge einfallender Streustrahlung zu reduzieren, wurde der Körper des Tieres in eine Bleiröhre (Zentrallabor für Elektronik und Institut für Medizin, Forschungszentrum Jülich GmbH; Wanddicke: 20 mm) eingebracht. Um während der Messung eine Körpertemperatur von 37° aufrecht zu erhalten, wurde die Bleiröhre beständig von warmem Wasser durchströmt.



Abb. 5. TierPET. Die Kamera hat eine räumliche Auflösung von 2.1 mm und eine Sensitivität von 3.24 cps/kBq für einen Zentrum-Detektor-Abstand von 80 mm.

2.1.1.2.4. PET-Messungen

Protokoll. Nach kurzzeitiger Inhalationsanästhesie mit Isofluran (1-Chloro-2,2,2,2-trifluoroethyldifluoromethylether, Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, BRD) wurde den Ratten ein Gemisch von Ketaminhydrochlorid (Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen, BRD; Konzentration: 100 mg/ml, Dosis: 0.9 ml/kg) und Xylazinhydrochlorid (Rompun® Bayer, Leverkusen, BRD; Konzentration: 0.02 mg/ml, Dosis: 0.4 ml/kg) in den Glutealmuskel injiziert. Die Applikation von [^{18}F]FMB (Median: 62 MBq, 25. Perzentil: 61 MBq, 75. Perzentil: 65 MBq) erfolgte in die V. jugularis. Das Injektionsvolumen betrug im Median 1.1 ml (25. Perzentil: 0.7

ml, 75. Perzentil: 1.4 ml). Die injizierte Radioaktivitätsdosis lag im Median bei 113 MBq/kg (25. Perzentil: 107 MBq/kg, 75. Perzentil: 126 MBq/kg). Nach der Wundversorgung wurden die Tiere dergestalt auf der Objekthalterung positioniert, dass die Striata im Zentrum des FOVs lagen. Die Datenakquisition erfolgte über einen Zeitraum von 36 Minuten (sechs Zeitfenster von jeweils sechsminütiger Dauer) in Winkelschritten vom 7.5° (30 s/Winkelschritt). Zwischen der Radioaktivitätsapplikation und dem Beginn der Messung vergingen im Median 6 Minuten (25. Perzentil: 4 Minuten, 75. Perzentil: 8 Minuten).

Datenprozessierung. Nach der Transformation der x- und y-Lokalisationen der in den Detektormodulen registrierten Koinzidenzen in räumliche Koordinaten wurden die resultierenden 3D-List-Mode-Datensätze nach der Methode von Lewitt und Mitarbeitern in 2D-Sinogramme konvertiert (Lewitt et al., 1994). Da die Durchführung einer Schwächungskorrektur auf der Grundlage von Transmissionsmessungen nicht möglich war, wurde der entsprechende Korrekturfaktor unter Annahme eines homogenen, wassergefüllten Zylinders mit $\mu = 0.095 \text{ cm}^{-1}$ geschätzt. Die Schwächungskorrektur wurde während der Konvertierung in 2D-Sinogramme vorgenommen. Die Rekonstruktion der Daten erfolgte unter Verwendung eines iterativen MLEM-Algorithmus' (Lipinski et al., 1997; Alpha Station 200, Digital Equipment Corp., Maynard, USA) in aufeinanderfolgenden Schichten von jeweils 2 mm Dicke. Pro Schicht wurden 25 Iterationen durchlaufen.

Die Bestimmung der Totzeit-Korrekturfaktoren erfolgte durch Messung des natürlichen Zerfalls von ^{11}C und Vergleich der in jedem Zeitfenster gemessenen Koinzidenzzählraten mit der extrapolierten Zählrate nach neun Isotop-Halbwertszeiten. Die Totzeit-Korrektur wurde während der Konvertierung der List-Mode-Daten in Sinogramme vorgenommen. Die entsprechenden Faktoren lagen zwischen 1.25 und 1.5 (Mittelwert [MW]: 1.3).

Die Detektor-Normalisierungsfaktoren wurden mittels einer positronenemittierenden Punktquelle ($^{68}\text{Ge/Ga}$) gemessen, die sich in einer Entfernung von 28 cm – dem siebenfachen Durchmesser des FOVs – zu den Detektorköpfen befand. Die einzelnen Ereignisse wurden getrennt für jeden Detektor akquiriert, wobei die Gesamtzählraten 1.7×10^6 , 1.2×10^6 , 1.4×10^6 und 1.3×10^6 betrugen. Die Normalisierungsfaktoren für jeden Kristall ergaben sich durch Berechnung des Quotienten zwischen den gemessenen und den erwarteten Zählraten; die mittleren Normalisierungsfaktoren betrugen für die einzelnen Detektoren 1.2, 0.87, 0.98 und 0.94. Während der Konvertierung der List-Mode-Daten wurde die Normalisierung der Detektoren

bezüglich der unterschiedlichen Abstände zum Mittelpunkt des FOVs durchgeführt. Dies erfolgte durch die Berechnung der Sensitivität der „Response“-Linien, die innerhalb des FOVs diagonal zu den einzelnen Schichten verlaufen.

Die Quantifizierung der Radioaktivitätskonzentrationen erfolgte mit einem Spritzenphantom, das 3 MBq einer ^{18}F -Lösung in einem Volumen von 2 ml enthielt. Der innere Durchmesser der Spritze betrug 9.8 mm, was dem Zweifachen des Durchmessers des Rattenstriatums und dem Vierfachen der räumlichen Auflösung der Kamera entspricht. Das Phantom wurde dreimal mit dem TierPET gemessen. Auf der Grundlage dieser Messungen ergab sich, dass 1 cps/mm³ einer Radioaktivitätskonzentration von 444 Bq/mm³ entsprach. Dieser Wert diente als Kalibrierungsfaktor für der Umrechnung der Zählraten in Radioaktivitätskonzentrationen (MBq/cm³).

Datenanalyse. Für jedes Tier wurden die sechs Zeitfenster aufsummiert und das resultierende Summenbild mit dem Multi Purpose Imaging Tool (MPI-Tool, Version 2.57, Advanced Tomo Vision, Erftstadt, BRD) analysiert. Auf der Grundlage des Gehirnatlasses von Paxinos und Watson (Paxinos & Watson, 1986) wurden die Striata auf koronaren Schnittbildern lokalisiert. Um den Mittelpunkt eines jeden Striatums wurde eine kreisförmige ROI mit einem Durchmesser von 2.5 mm gezogen. Die Lage der ROIs wurde für jedes Tier individuell angepasst. Dies erfolgte unabhängig voneinander von zwei Auswertern, wobei sich eine „Interobserver“-Variabilität < 5% ergab. Die Studien von Moerlein und Mitarbeitern zeigen, dass etwa 20 Minuten nach Applikation von [^{18}F]FMB das Bindungsequilibrium im Striatum des Affen erreicht ist (Moerlein et al., 1997b); das Nämliche wurde für [^{11}C]FMB im Striatum der Maus gezeigt (Suehiro et al., 1990). Auf der Grundlage dieser Befunde wurden die Radioaktivitätskonzentrationen im linken und rechten Striatum über die letzten drei Zeitfenster gemittelt („Late-Time“-Methode, s. Übersichtsarbeit von Ito et al., 1998).

Partialvolumenkorrektur. Der Partialvolumeneffekt führt bei Objekten, deren Durchmesser das Zweifache der Ortsauflösung unterschreitet, zu einer Unterschätzung der Radioaktivitätskonzentrationen. Abb. 6 zeigt die theoretisch zu erwartende Recovery bei einer Ortsauflösung von 2.1 mm FWHM. Wir führten Messungen mit einem Zylinderphantom (Durchmesser: 18.3 mm, Höhe: 51 mm) durch, das zylinderförmige Hohlräume unterschiedlicher Durchmesser enthielt. Dabei bezeichneten zwei Zylinder mit einem Durchmesser von jeweils 4 mm die Harderschen Drüsen, während das Striatum durch zwei Zylinder mit einem Durchmesser

von 2 mm dargestellt wurde. Das Phantom wurde mit insgesamt 3.3 MBq ^{18}F befüllt, wobei das radioaktive Isotop im Verhältnis 4:4:1 in die Zylinder mit einem Durchmesser von 2 beziehungsweise 4 mm und in den sie umgebenden Hohlraum eingefüllt wurde. Damit befanden sich in den einzelnen Räumen Radioaktivitätskonzentrationen von 330 („Hartersche Drüsen“, „Striatum“) oder 80 Bq/mm³ („Background“). Dafür ergaben sich Zählraten von 58 („Hartersche Drüsen“), 31 („Striatum“) und 17 cps/Pixel („Background“). Da bei einem Zylinder mit einem Durchmesser von 18.3 mm kein Partialvolumeneffekt zu erwarten ist, entsprach die „Background“-Zählrate von 17 cps/Pixel genau einem Viertel der maximal messbaren Counts (86 cps/Pixel $\leftrightarrow$ 100%). Hieraus ergaben sich für die in den Zylindern von 2 (31 cps/Pixel $\leftrightarrow$ 46%) und 4 mm Durchmesser (58 cps/Pixel $\leftrightarrow$ 85%) ermittelten Zählraten Recovery-Koeffizienten von 0.46 beziehungsweise 0.85 (Abb. 6). Der mesiolaterale striatale Durchmesser beträgt etwa 2 mm, liegt also im Bereich der räumlichen Auflösung des TierPETs. Aus den dargestellten Phantommessungen folgt, dass die Radioaktivität in einer Zielregion mit einem Durchmesser von 2 mm um etwa 60% unterschätzt wird. Auf der Grundlage dieser Messungen wurden die linken und rechten striatalen Radioaktivitätskonzentrationen einer Partialvolumenkorrektur unterzogen. Für jedes Tier wurde hierauf der Mittelwert aus linker und rechter korrigierter striataler Radioaktivitätskonzentration berechnet.

Spill-over-Korrektur. Frühere Studien mit sowohl konventionellen klinischen (Kuge et al., 1997) als auch dedizierten Kleintier-Scannern (Fukuyama et al., 1998) zeigten hohe Radioaktivitätsakkumulationen in den Harterschen Drüsen, die in den medialen Anteilen der Orbitae lokalisiert sind (Abb. 7A). Da Tracer-Akkumulationen in diesem Bereich zu einer Überschätzung der intrazerebralen Radioaktivitätskonzentrationen führen können (s. Übersichtsarbeit von Myers et al., 1999), wurde für die Quantifizierung der TierPET-Daten ein Korrekturalgorithmus entwickelt (Beu et al., 2000; Abb. 7B). Hierfür wurden zuerst für jede Seite des Rattenkopfes Linienaktivitätsprofile durch Orbita, Striatum und die angrenzende Kortexregion gelegt. Im Anschluss wurde die Gauss'sche Modellfunktion

$$y = A_{\text{HD}} \exp -0.5[(x-m_{\text{HD}})/s_{\text{HD}}]^2 + A_{\text{STR}} \exp -0.5[(x-m_{\text{STR}})/s_{\text{STR}}]^2 + A_{\text{KOR}} \exp -0.5[(x-m_{\text{KOR}})/s_{\text{KOR}}]^2$$

an die Linienaktivitätsprofile angepasst mit A_{HD} , A_{STR} und A_{KOR} als Normalisierungsfaktoren, m_{HD} , m_{STR} und m_{KOR} als x-Koordinaten der Aktivitätsmaxima und s_{HD} , s_{STR} und s_{KOR} als die

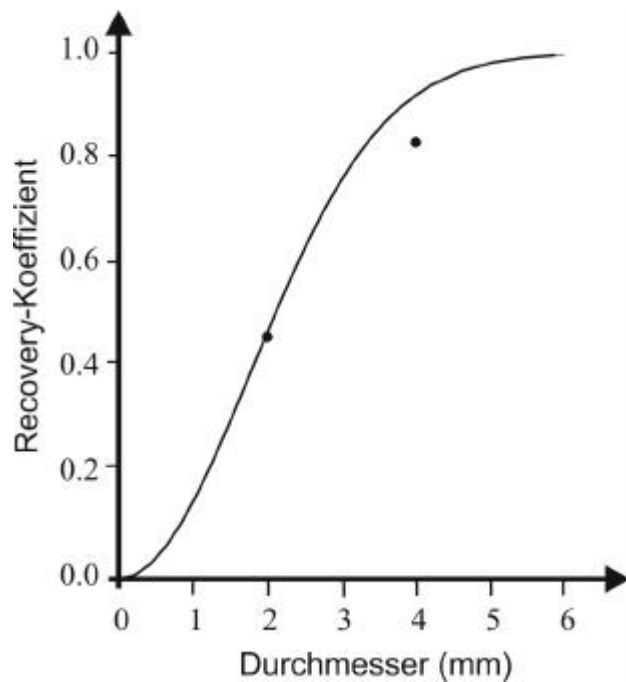


Abb. 6. Partialvolumenkorrektur. Theoretisch zu erwartende Recovery bei einer Ortsauflösung von 2.1 mm FWHM. Die Recovery-Koeffizienten sind gegen den Durchmesser des zu messenden Objektes aufgetragen. Die beiden Punkte entsprechen der experimentell bestimmten Recovery bei Zylindern mit Durchmessern von 2 beziehungsweise 4 mm.

FWHM-Werte der glandulären, striatalen und kortikalen Kurven. Die entstandene Summenfunktion wurde in die Einzelkomponenten „striatale“, „retroorbitale“ und „kortikale“ Aktivität zerlegt. Im Anschluss wurde das Spill-over zwischen den einzelnen Regionen quantifiziert, indem die Integrale der Überlappungen von striataler und glandulärer Kurve zu den

Integralen der Einzelkurven in Beziehung gesetzt wurden ($\int_0^t STR' / \int_0^t HG$ und $\int_0^t HG' / \int_0^t STR$). Die

Spill-over-Korrektur erfolgte für jede Seite durch Subtraktion der gegenseitigen prozentualen Beiträge jeder Kurve von der über die letzten drei Zeitfenster gemittelten striatalen Radioaktivitätskonzentration.

2.1.1.2.5. *Ex vivo* Autoradiographie

Nach Beendigung der PET-Messungen wurden die anästhesierten Ratten durch Genickbruch getötet. Die Gehirne wurden entnommen und in Isopentan bei -70°C tiefgefroren. Von 2.2 mm vor bis 2.3 mm hinter Bregma (Paxinos & Watson, 1986) wurden mit einem Mik-

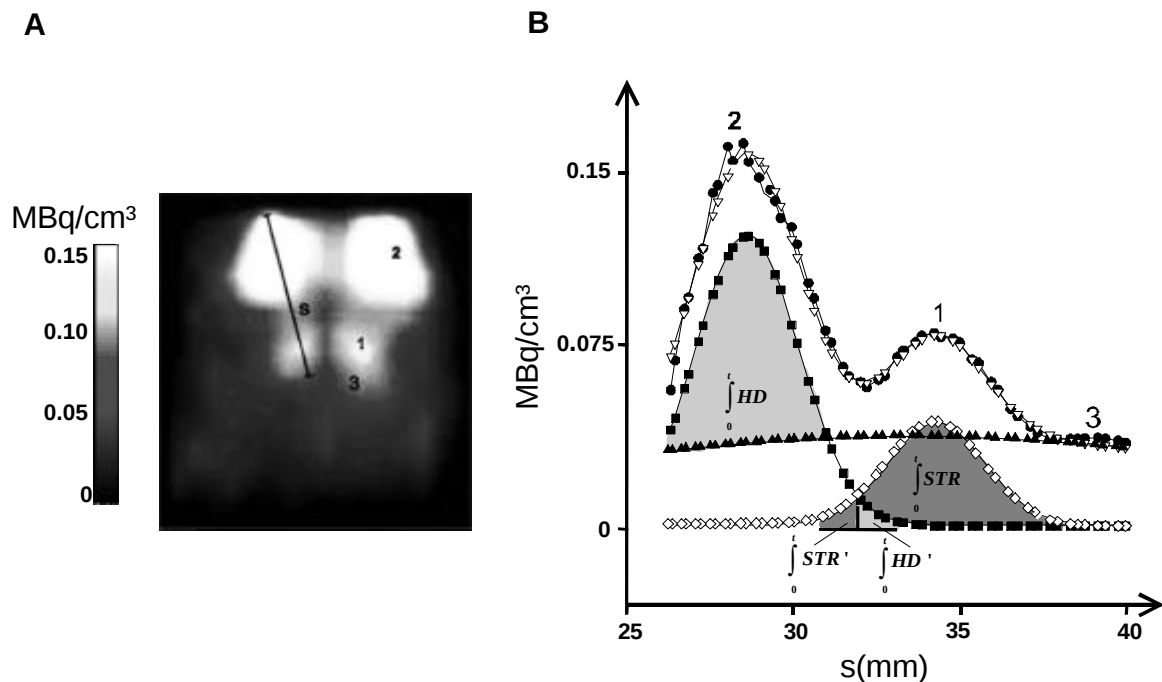


Abb. 7. Spill-over-Korrektur. (A) Charakteristisches TierPET-Bild eines Sprague-Dawley-Rattenkopfes in koronaler Schnittführung. (B) Um den Einfluss der retroorbitalen Radioaktivitätsanreicherungen auf die Bestimmung der striatalen [^{18}F]FMB-Konzentrationen zu bestimmen, wurde eine Gauss'sche Modellfunktion an die Linienaktivitätsprofile (s) (Φ) der Striatae (1) und Orbitae (2) beider Seiten angepasst. (B) Nach der Zerlegung der Summenfunktion in die Einzelkomponenten „striatale“ (1), „glanduläre“ (2) und „kortikale“ Aktivität (3) wurde die Überlappung zwischen striataler und glandulärer Kurve als Maß für das Spill-over zwischen den beiden Regionen betrachtet. Nach Nikolaus et al., 2003a, 2004a.

rotom (CM3050, Leica, Bernsheim, BRD) aufeinanderfolgende transversale Gefrierschnitte von 20 μm Dicke angefertigt. Jeder fünfte Schnitt wurde auf einen Objektträger aufgebracht und bei Zimmertemperatur luftgetrocknet. Aus Rinderkortex wurden Radioaktivitätsstandards hergestellt, indem [^{18}F]FMB in steigenden Konzentrationen (20-750 kBq/g Gewebe [Nassgewicht]) in Eppendorf-Gefäße mit dem entsprechend portionierten Hirngewebe eingebracht wurde. Nach manueller Homogenisierung der Standards wurden auch hier Gefrierschnitte von 20 μm Dicke angefertigt.

Das Prinzip der Storage-Phosphor-Autoradiographie besteht in der Photostimulation von mit Bariumfluorobromidkristallen (BaFBr:Eu^{2+}) beschichteten Bildplatten durch ionisierende Strahlung. Das Auslesen der Ionisationen erfolgt mit speziellen Scannern („Imaging Plate Readers“, IPRs), bei denen ein Laserstrahl über die Bildplatten geführt wird; die emittierte Lumineszenz wird durch einen PMT detektiert und in elektrische Signale umgewandelt (Ito et al.,

1995). In der hier dargestellten Untersuchung wurden die Bildplatten (SR 2015, Fuji Medical Systems, Clichy, Frankreich) für 17 Stunden den striatalen Schnitten und Rinderhirnstandards ausgesetzt. Nach der Exposition wurden die Platten mit einem Hochleistungs-IPR (BAS5000, Fuji Medical Systems, Clichy, Frankreich; räumliche Auflösung: 25 μm) gescannt. Die resultierenden Bilder wurden mit dem Advanced Image Data Analyzer (AIDA 2.3.0.1, Raytest Isotopenmessgeräte GmbH, Straubenhardt, BRD) analysiert. Hierbei wurde für 2.2 mm vor bis 2.3 mm hinter Bregma der gesamte striatale Umriss als ROI definiert. Für jedes Tier wurde die mittlere striatale radioaktivitätskonzentration (MBq/cm^3) berechnet.

2.1.1.2.6. Statistische Analyse

PET- und Autoradiographie-Daten wurden zerfallskorrigiert. Im Anschluss wurden für PET (nicht-partialvolumenkorrigiert, partialvolumenkorrigiert, partialvolumen- und spill-overkorrigiert) und Autoradiographie über jeweils sämtliche Tiere Mediane sowie 25. und 75. Perzentile der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen bestimmt. Die Autoradiographie-Daten wurden mit den partialvolumenkorrigierten PET-Daten vor und nach Vornahme der Spill-over-Korrektur korreliert. Als Maß für die Übereinstimmung zwischen den mit Autoradiographie und den mit PET ermittelten striatalen Radioaktivitätskonzentrationen wurden die Pearson-Korrelationskoeffizienten bestimmt (einseitiger t-Test, $\alpha = 0.01$).

2.1.1.3. Ergebnisse

Abb. 8 zeigt ein charakteristisches TierPET-Bild in koronaler Schnittführung und eine Abbildung des Rattenkopfes aus dem stereotaktischen Gehirnatlas von Toga und Mitarbeitern (Toga et al., 1995). Die Übereinstimmung zwischen dem PET-Bild und der Makroanatomie des Rattenkopfes ist offensichtlich; die höchsten [^{18}F]FMB-Akkumulationen können den Harderschen Drüsen und dem Striatum zugeordnet werden.

Abb. 9 zeigt transversale PET- und Autoradiographie-Bilder derselben Ratte. Beide Methoden zeigen, dass das Striatum die höchsten intrazerebralen [^{18}F]FMB-Konzentrationen

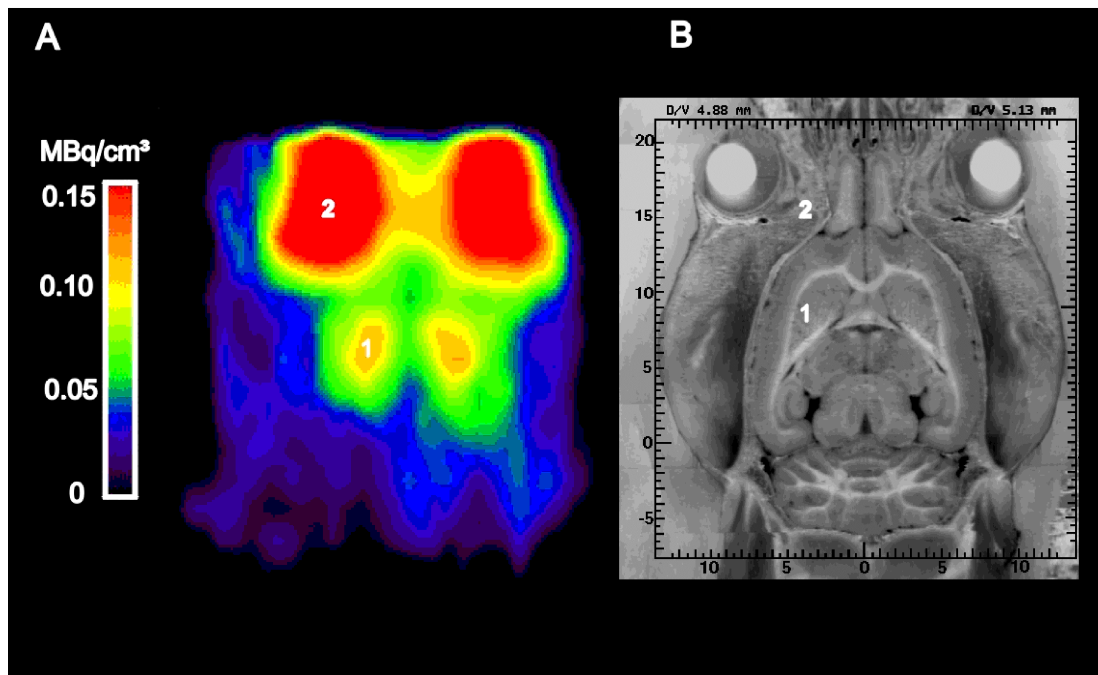


Abb. 8. Koronarschnitte durch den Kopf einer Sprague-Dawley-Ratte. (A) zeigt ein charakteristisches TierPET-Bild. (B) wurde dem digitalen, stereotaktischen 3D-Gehirnatlas von Toga und Mitarbeitern entnommen (Toga et al., 1995). Die Abbildung zeigt die Übereinstimmung zwischen dem PET-Bild und der Makroanatomie des Rattenkopfes. Die höchsten ^{18}F FMB-Akkumulationen befinden sich im Striatum (1) und in den retroorbital gelegenen Harderschen Drüsen (2). Nikolaus et al., 2001.

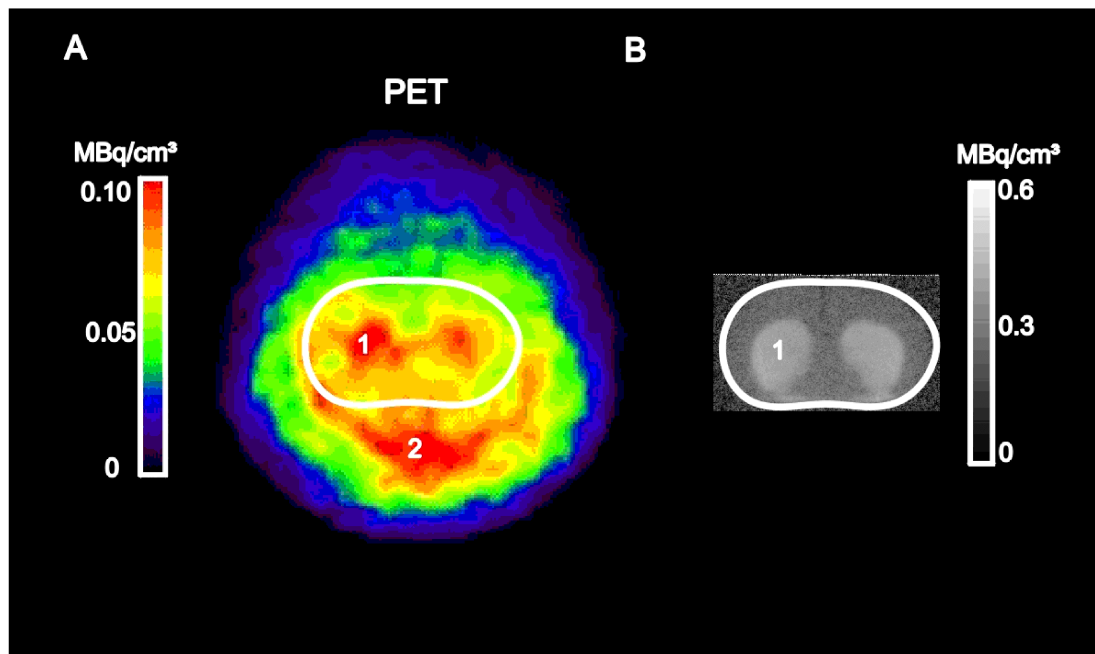
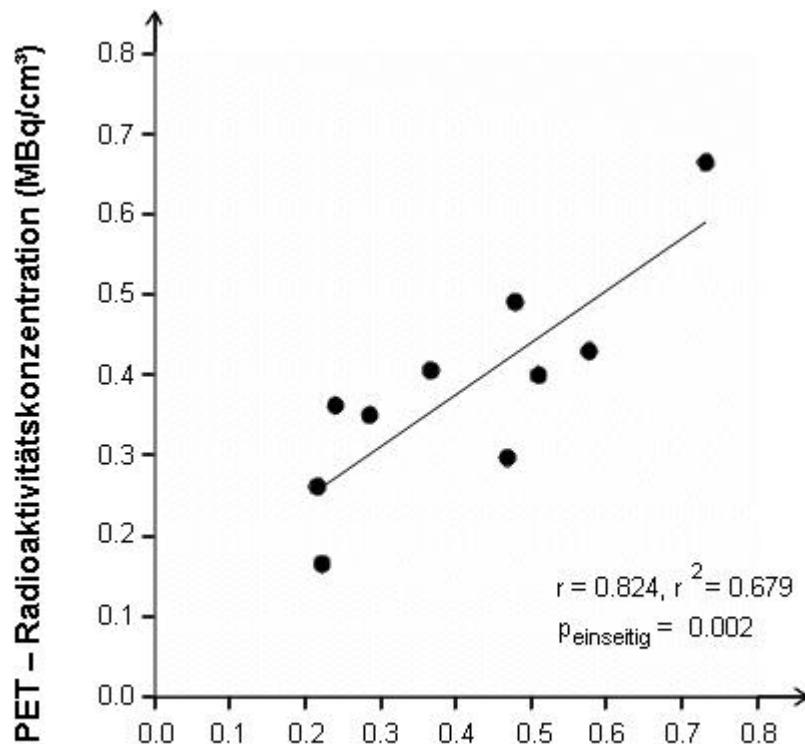


Abb. 9. Transversalschnitte durch den Kopf einer Sprague-Dawley-Ratte. (A) zeigt ein charakteristisches TierPET-Bild. (B) zeigt ein autoradiographisches Schnittbild des Zerebrums derselben Ratte. Der Umriss des autoradiographischen Schnittbildes wurde auf das PET-Bild übertragen. 1, Striatum, 2, Speicheldrüse. Nikolaus et al., 2001.



Autoradiographie - Radioaktivitätskonzentration (MBq/cm³)

Abb. 10. Korrelation der mit PET und Storage-Phosphor-Autoradiographie gemessenen striatalen [^{18}F]FMB-Konzentrationen nach Zerfalls-, Partialvolumen- und Spill-over-Korrektur ($n = 10$). Es ergab sich eine signifikante positive Korrelation mit einem $r = 0.824$. Steigung a und y -Achsenabschnitt b der Regressionsgeraden lagen bei 0.647 beziehungsweise 0.117. Nach Nikolaus et al., 2001.

aufweist. Ein offensichtlicher Vorteil der *in vivo* Methode ist jedoch, dass neben den intrazerebralen auch die extrazerebralen [^{18}F]FMB-Anreicherungen in Harderscher Drüse (Abb. 8) und Speicheldrüse (Abb. 9) dargestellt werden können.

Vor Durchführung der Partialvolumenkorrektur betrug der Median der mit PET gemessenen striatalen Radioaktivitätskonzentrationen 0.15 MBq/cm³ (25. Perzentil: 0.12 MBq/cm³, 75. Perzentil: 0.16 MBq/cm³). Nach Vornahme der Partialvolumenkorrektur stieg der Median auf 0.40 MBq/cm³ (25. Perzentil: 0.32 MBq/cm³, 75. Perzentil: 0.44 MBq/cm³). Mithin führte die Partialvolumenkorrektur zu einem vierfachen Anstieg der im Striatum gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen. Nach Spill-over-Korrektur der partialvolumenkorrigierten Daten ergab sich ein geringfügig reduzierter Median von 0.38 MBq/cm³ (25. Perzentil: 0.30 MBq/cm³, 75. Perzentil: 0.43 MBq/cm³). Die Ligandenakkumulation in den retroorbital gelegenen

Harderschen Drüsen resultierte somit in einer 5%igen Überschätzung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen.

Der Median der autoradiographisch bestimmten Radioaktivitätskonzentrationen betrug 0.42 MBq/cm³ (25. Perzentil: 0.24 MBq/cm³, 75. Perzentil: 0.51 MBq/cm³). Die Korrelierung der *in vivo* und *ex vivo* gemessenen striatalen Radioaktivitätskonzentrationen ohne jede Korrektur ergab einen Pearson-Korrelationskoeffizienten (*r*) von 0.813 (einseitiger *t*-Test, *p* = 0.002). Nach Vornahme einer Partialvolumenkorrektur der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen war *r* = 0.818 (einseitiger *t*-Test, *p* = 0.002). Nach zusätzlicher Spill-over-Korrektur lag *r* bei 0.824 (*p* = 0.002, Abb. 10).

2.1.1.4. Diskussion

Das TierPET besteht aus vier planaren, orthogonal angeordneten, pixellierten, YAP(Ce)-Blockdetektoren, wobei jeder Detektor mit dem ihm gegenüberliegenden in Koinzidenz geschaltet ist (Weber et al., 1997). Im Vergleich zu Kameras mit ringförmiger Konfiguration (ohne Möglichkeit zur DOI-Bestimmung) wird durch den Einsatz der rotierfähigen planaren Module die Parallaxe reduziert und die Uniformität der Auflösung im gesamten FOV erhöht. Allerdings ist die Sensitivität aufgrund des niedrigen *Z_{eff}* der YAP-Kristalle und der kleinen Detektorflächen verhältnismäßig niedrig. Überdies ist sie im Zentrum des FOVs am größten und fällt zum Rand hin bis auf 1.5 % des Maximums ab. Ein wichtiges Charakteristikum der dedizierten Kleintierkameras mit im Winkel von 90° oder 180° angeordneten Detektoren ist daher in der Regel, dass die Detektorabstände zur Erreichung einer optimalen Sensitivität variiert werden können. Auflösung und Sensitivität des TierPETs betragen 2.1 mm FWHM und 47 cps/kBq/ml (3.24 cps/kBq; für einen Zentrum-Detektor-Abstand von 80 mm). Damit ist diese Kamera - unter den Tomographen, mit denen bis *dato* inhaltliche Studien durchgeführt wurden - hinsichtlich ihrer Performance dem Sherbrooke APD-PET (Lecomte et al., 1994) und dem RATPET (Bloomfield et al., 1995) vergleichbar (s. Tab. I im Anhang). Gegenüber dem PCR-I (Brownell et al., 1989) und dem Hamamatsu SHR-2000 (Watanabe et al., 1992) ergibt sich eine höhere Auflösung, jedoch eine deutlich schlechtere Sensitivität, während sich gegenüber dem MicroPET (Cherry et al., 1996), dem ATLAS-Scanner (Seidel et al., 2003) und dem IndyPET-II

(Rouze & Hutchins, 2003) eine niedrigere Auflösung, jedoch eine höhere Sensitivität ergibt. Dem dual-HIDAC (Jeavons et al., 1999) ist das TierPET hinsichtlich sowohl der Auflösung als auch der Sensitivität deutlich unterlegen.

Die Rekonstruktion der TierPET-Bilder erfolgt mit einem MLEM-Algorithmus; iterative Verfahren haben gegenüber der FBP den Vorteil, dass ein exakteres Projektionsmodell angenommen wird. Vergleichende Studien, die mit dem MicroPET (Chatziioannou et al., 2001) und dem IndyPET (Frese et al., 2003) durchgeführt wurden, zeigten entsprechend, dass die Implementierung iterativer Algorithmen zu einer höheren quantitativen Genauigkeit führt.

Unsere Ergebnisse zeigten eine signifikante positive Korrelation zwischen den mit dem TierPET und den mit der Methode der Storage-Phosphor-Autoradiographie gemessenen striatalen Radioaktivitätskonzentrationen. Dabei konnten etwa 70% der Varianz der TierPET-Daten durch die „tatsächlichen“ striatalen [^{18}F]FMB-Konzentrationen erklärt werden, wie sie mit der Storage-Phosphor-Autoradiographie als Goldstandard ermittelt wurden.

Die Korrelation der *in vivo* und *ex vivo* ermittelten Radioaktivitätskonzentrationen war nahezu unabhängig von der Vornahme einer Partialvolumen- oder Spill-over-Korrektur. Dies liegt darin begründet, dass es sich bei beiden Korrekturen *de facto* um die Multiplikation der mit dem TierPET gemessenen Rohdaten mit einem bestimmten Faktor handelt, der bei der Partialvolumenkorrektur für alle Tiere identisch war und bei der Spill-over-Korrektur für alle Tiere in der gleichen Größenordnung lag. Beide Korrekturen sind jedoch entscheidend für die quantitative Genauigkeit der TierPET-Daten: ohne Vornahme einer Partialvolumenkorrektur wurde die striatale Radioaktivitätskonzentration um $\sim 60\%$ unterschätzt, während der Verzicht auf eine Spill-over-Korrektur zu einer $\sim 5\%$ igen Überschätzung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen führte. Dabei ist es bemerkenswert, dass sich nach Vornahme – insbesondere der Partialvolumenkorrektur – auch eine sehr gute quantitative Übereinstimmung der *in vivo* und *ex vivo* bestimmten striatalen Radioaktivitätskonzentrationen ergab.

Bei [^{18}F]FMB handelt es sich um einen - im Vergleich zu etwa [^{11}C]Racloprid oder [^{11}C]MSP - weniger etablierten D_2 -Rezeptorliganden. Dabei hat diese Substanz jedoch den Vorteil, vermöge der ^{18}F -Halbwertszeit von 109.7 Minuten Messungen über einen längeren Zeitraum zu ermöglichen. Weiterhin hat ^{18}F von allen Positronenstrahlern der ersten Reihe die niedrigste Positronenreichweite. Hieraus folgt eine höhere Ortsauflösung, was bei der Darstellung von Zielregionen mit einem Durchmesser in der Größenordnung des Rattenstriatums von großer

Bedeutung ist. Alle diese Begleitumstände legen eher die Verwendung eines ^{18}F - als eines ^{11}C -markierten Radioliganden nahe. Nachdem in früheren Studien gezeigt worden war, dass [^{18}F]FMB und andere Benperidol-Analoga nicht nur durch eine hinreichende Affinität für den D_2 -Rezeptor nicht-humaner Primaten ($K_i = 3.6 \text{ nM}$) und Mäuse ($K_i = 5.2 \text{ nM}$) gekennzeichnet sind (Suehiro et al., 1990, Moerlein et al., 1992a, b), sondern auch anderen bekannten ^{18}F -markierten D_2 -Rezeptorliganden wie dem [^{18}F]MSP (Arnett et al., 1995), dem [^{18}F]ESP (Jovkar et al., 1990) und dem [^{18}F]Fallyprid (Christian et al., 2000) hinsichtlich der Selektivität überlegen sind, fiel für diese Studie unsere Wahl auf das [^{18}F]FMB.

Das Ziel dieser Studie war die Validierung des TierPETs durch den Vergleich der mit dieser Kamera und einer Referenzmethode gemessenen striatalen [^{18}F]FMB-Konzentrationen. Als solche verwendeten wir die *ex vivo* Autoradiographie, die nicht nur für die Durchführung von Rezeptorbindungsstudien die Methode der Wahl ist, sondern auch bei der Validierung von Kleintierkameras für unterschiedliche Fragestellung eine breite Anwendung findet (Antoni et al., 1997, Gambhir et al., 1998, Hayakawa et al., 2000, Ogawa et al., 2000, Wu et al., 2000). Bei der Verwendung von Film- oder Storage-Phosphor-Autoradiographie als sogenannten „Goldstandard“ muss man sich jedoch der Tatsache bewusst sein, dass auch dieser Methode zahlreiche Unwägbarkeiten innewohnen. Hierzu gehören kleine Abweichungen in der Dicke der Gehirnschnitte ebenso wie in der Qualität der manuell homogenisierten Rinderhirnstandards. Hinzu kommt, dass sowohl die Gehirnschnitte als auch die gleichfalls mit dem Mikrotom geschnittenen Standards Beschädigungen durch das Messer aufweisen können. Mithin liefert auch die Autoradiographie nicht notwendigerweise fehlerfreie Resultate. Zudem wurden die mit der Methode der Autoradiographie gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen über die gesamte rostrokaudale Ausdehnung des Striatums gemittelt. Infolge aller dieser Faktoren lag die Varianz zwischen den Schnitten bei den einzelnen Tieren zwischen 12 und 37%.

Die PET-Daten wurden ausgewertet, indem für jedes Tier ein koronarer Hirnschnitt ausgewählt wurde, auf dem die Definition der linken und rechten striatalen ROI erfolgte. Die Auswahl eines geeigneten Schnittbildes hing dabei zum einen von der Lokalisation des striatalen Aktivitätsmaximums und zum anderen von der Radioaktivitätsakkumulation in den Harderschen Drüsen ab. Folglich wurden die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen mit dem TierPET nicht für das gesamte Striatum, sondern lediglich für die Schicht bestimmt, die durch den höchsten striatalen Durchmesser und das niedrigste Spill-over aus den Harderschen Drüsen gekennzeichnet

war. Die ermittelten Radioaktivitätskonzentrationen sind mithin lediglich für den mittleren Teil des Caudatoputamens repräsentativ. Überdies waren die für die ROI-Definition ausgewählten Schichten nicht bei allen Tieren identisch, da auf Grund mangelnder anatomischer Koregistrierung keine exakte Bestimmung der anterioposterioren stereotaktischen Koordinaten möglich war. Aufgrund der relativ niedrigen Zählraten von 70 bis 380 Zerfällen pro ROI waren die PET-Daten zudem einer natürlichen statistischen Varianz von 5 bis 12% unterworfen. Es ist bemerkenswert, dass die Korrelierung der PET-Daten mit den autoradiographisch ermittelten Werten - ungeachtet der die Ergebnisse beider Methoden beeinträchtigenden Störvariablen verschiedenen Ursprungs - eine Datenabhängigkeit von nicht weniger als 68% ergab.

Infolge der sorgfältigen Positionierung der striatalen ROIs erwies sich das Spill-over aus der Harderschen Drüse als minimal. Dies wurde zum einen durch die räumliche Auflösung der Kamera erreicht, die eine Trennung der striatalen und orbitalen Aktivitätsmaxima erlaubt; wie Abb. 7 zeigt, liegt zwischen den beiden Peaks eine Strecke, die dem zweifachen der räumlichen Auflösung entspricht. Überdies wurde der Durchmesser der striatalen ROIs auf 2.5 mm festgesetzt; wie aus den striatalen und orbitalen Aktivitätsprofilen ersichtlich ist, können die in striatalen ROI dieser Größe gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen lediglich in geringem Ausmaß Spill-over-Strahlung aus der Harderschen Drüse enthalten. Infolgedessen beeinflusste unsere Spill-over-Korrektur die Quantifizierung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen nur minimal und übte keinerlei Einfluss auf die Korrelation zwischen PET- und Autoradiographie-Daten aus.

Hume und Mitarbeiter berichteten weit voneinander abweichende Resultate, als sie *in vivo* mit dem RATPET gemessene Radioaktivitätswerte mit den nach *post mortem* Dissektion im Gammazähler erhaltenen Werten verglichen und führten diese Unterschiede auf Partialvolumen- und Spill-over-Effekte zurück (Hume et al., 1996, Myers et al., 1999). In unserer Studie lagen die mit PET und Autoradiographie gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen nach Partialvolumenkorrektur der ersteren in der gleichen Größenordnung; Spill-over-Effekte aus den Harderschen Drüsen konnten weitgehend eliminiert werden. Hierbei bedarf es jedoch des Hinweises, dass der Partialvolumeneffekt in unserer Untersuchung lediglich auf der Grundlage von Phantomstudien abgeschätzt wurde. Hieraus resultierende mögliche Überschätzungen der „wahren“ striatalen Radioaktivitätskonzentrationen sind sicherlich eine Ursache dafür, dass unsere Regressionsgerade (Abb. 10) nicht durch den Nullpunkt verläuft. Eine weitere

Verbesserung der quantitativen Übereinstimmung könnte durch Koregistrierung von funktionellen und morphologischen Bilddaten erreicht werden, die eine exakte anatomische Orientierung und damit in den einzelnen Schichten die Bestimmung spezifischer Recovery-Faktoren für jedes Zielvolumen erlauben (Müller-Gärtner et al., 1992, Weckesser et al., 1997).

2.1.2. *In vivo* Bestimmung der D₂-Rezeptordichte und D₂-Rezeptoraffinität für [¹⁸F]N-Methylbenperidol im Striatum der Ratte²

2.1.2.1. Einleitung

Die vorangegangene Untersuchung zeigte, dass die Anreicherung von [¹⁸F]FMB im D₂-rezeptorreichen striatalen Gewebe der Ratte mit dem TierPET quantifiziert zu werden vermag. Dabei ergab sich eine signifikante positive Korrelation sowie eine sehr gute quantitative Übereinstimmung der *in vivo* mit Kleintier-PET und *ex vivo* mit Storage-Phosphor-Autoradiographie gemessenen striatalen Radioaktivitätskonzentrationen.

Eine Voraussetzung für die exakte Bestimmung der Bindungsparameter mit Hilfe bildgebender Verfahren ist die Messung der arteriellen freien Ligandenkonzentration. Da jedoch die wiederholte Entnahme hinreichend großer Blutmengen bei kleinen Versuchstieren problematisch ist, wurden in den bislang mit Kleintier-PET durchgeführten D₂-Rezeptorbindungsstudien vereinfachte Modelle zugrunde gelegt, die eine Abschätzung des BPs ohne Generierung einer arteriellen Input-Funktion erlauben. Hierzu gehören das dynamische (Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998), das non-invasiv graphische (Nguyen et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Le Masurier et al., 2004, Schiffer et al., 2006) und das vereinfachte Referenzgewebe-Modelle (Torres et al., 1995, Hume et al., 1995, 1996, Fricker et al., 1997b, Opacka-Juffry et al., 1998, Araujo et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b, Umegaki et al., 2002, Inaji et al., 2005). Darüberhinaus wurde in einer Studie die Radioaktivität in der Zielregion zu der pro Gewebevolumen injizierten Radioaktivitätsdosis in Beziehung gesetzt (Ogawa et al., 2000).

Da keiner dieser Ansätze die separate Bestimmung von K_D und B_{max} erlaubt, beschreiben wir hier eine Methode, die das Prinzip der Sättigungsbindungsanalyse auf die *in vivo* Bildgebung bei kleinen Labortieren angewendet und auf diese Weise die Bestimmung von K_D und B_{max} analog zu *in vitro* Experimenten mit linearer („Scatchard Plot“) oder nicht-linearer Regressionsanalyse ermöglicht.

In vitro Radioligandenbindungsstudien liegt die Annahme zweier Kompartimente

² Durchführung des Experimentes: April 1999 – März 2000; Erstpublikation: April 2003

zugrunde, die in derselben Küvette lokalisiert sind und zum einen die Gewebeschnitte mit den Rezeptoren, zum anderen die Pufferlösung mit dem Radioliganden bezeichnen (Abb. 3). Wenn wir das Prinzip der *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse auf die *in vivo* Bildgebung übertragen, so kann die freie Ligandenkonzentration, [L], den gepoolten Kompartimenten $C_2 + C_2'$ zugeordnet werden, während die Konzentrationen der freien Rezeptoren, [R], und der Rezeptor-Liganden-Komplexe [LR], dem Kompartiment C_3 angehören. Die spezifische Bindung kann durch die Subtraktion der nicht-spezifischen und freien Radioligandenkonzentrationen, [L], von der gesamten Radioaktivitätskonzentration, [LR], bestimmt werden, wobei [L] aus der REF und [LR] aus der ROI abgeleitet werden können.

Die Interaktion von Rezeptor und Radioligand wird durch



beschrieben. Da diese Reaktion von Assoziations- und Dissoziationskonstante (k_{on} beziehungsweise k_{off}) bestimmt wird, gilt nach dem Gesetz der Massenwirkung im Equilibrium

$$k_{on}[L][R] = k_{off}[LR] \quad \text{Gl.(2)}$$

Da die Equilibriumsdissoziationskonstante, K_D , als k_{off}/k_{on} definiert ist und die Rezeptordichte, $B_{max} = [R] + [LR]$, führt Substitution in Gl. (2) und Umformung zu

$$[L][R] = \frac{B_{max}[L]}{K_D + [L]} \quad \text{Gl. (3)}$$

Bei der Verabreichung von Tracerdosen mit $[L] \ll K_D$, erhält man das Verhältnis der gebundenen zur freien Radioligandenkonzentration durch Umformung von Gl. (3) als

$$\frac{[LR]}{[L]} = \frac{B_{max}}{K_D} \quad \text{Gl. (4)}$$

B_{max}/K_D wird als BP bezeichnet. Wird [LR] gegen [L] aufgetragen, erhält man B_{max} und K_D wie bei der *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse aus der resultierenden Hyperbel mittels nicht-linearer Regressionsanalyse.

Von Tsukada und Mitarbeitern wurde bis *dato* eine *in vivo* Scatchard-Analyse als Ergänzung zu einer Kleintier-PET-Studie durchgeführt; Zweck war hierbei, zu klären, ob die beobachtete Reduktion der Rezeptorbindung auf Änderungen von K_D oder B_{max} zurückzuführen sind (Tsukada et al., 1996). Im Gegensatz hierzu untersuchten wir, ob die klassische *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse auch unter *in vivo* Bedingungen valide ist. Zu diesem Zweck wurde neben der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse mit PET auch eine konventionelle *in vitro*

Bestimmung von K_D und B_{max} mit der Methode der Storage-Phosphor-Autoradiographie durchgeführt (Nikolaus et al., 2003a, 2004a).

2.1.2.2. Methode

2.1.2.2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 15 männliche Sprague-Dawley-Ratten (Charles River, St. Aubin-les-Elbeuf, Frankreich) mit einem Gewicht zwischen 300 und 500 g. Acht Tiere wurden mit PET untersucht, während die Gehirne sieben weiterer Tiere einer *in vitro* Autoradiographie unterzogen wurden. Die Experimente wurden von der Bezirksregierung in Köln genehmigt und in Übereinstimmung mit dem Deutschen Tierschutzgesetz im Institut für Medizin (Forschungszentrum Jülich GmbH) durchgeführt.

2.1.2.2.2. Radiochemie

[^{18}F]FMB wurde vom Institut für Nuklearchemie (Forschungszentrum Jülich GmbH) zur Verfügung gestellt. Die Synthese erfolgte nach dem Verfahren von Moerlein und Mitarbeitern (Moerlein et al., 1992a). Die nukleophile aromatische Fluorinierung mittels Substituierung der O_2N -Gruppe durch ^{18}F wurde durchgeführt, wie für den Butyrophenonliganden [^{18}F]MSP beschrieben (Hamacher & Hamkens, 1995). Die mit HPLC bestimmte radiochemische Reinheit überstieg 98%. In den *in vivo* Experimenten variierte die spezifische Aktivität zum Injektionszeitpunkt im Bereich einer Größenordnung (Reichweite: >11 bis >100 TBq/mmol). Die injizierten molaren Mengen lagen zwischen 0.81 und 5.40 nmol.

2.1.2.2.3. PET-Messungen

Protokoll. Nach kurzzeitiger Inhalationsanästhesie mit Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, BRD) wurde den Ratten ein Gemisch von Ketaminhydrochlorid (Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen, BRD; Konzentration: 100 mg/ml, Dosis: 0.9 ml/kg) und Xylazinhydrochlorid (Rompun®, Bayer, Leverkusen, BRD; Konzentration: 0.02 mg/ml, Dosis: 0.4 ml/kg) in den Glutealmuskel injiziert. [^{18}F]FMB (MW $\pm$ Standardabweichung [SD]: 70.4 ± 8.7 MBq) wurde mit 0.9% NaCl (10% Ethanol) verdünnt und in die V. jugularis appliziert. Das

mittlere Injektionsvolumen betrug 1.0 ± 0.5 ml. Die injizierte Radioaktivitätsdosis lag bei 158.3 ± 24.2 MBq/kg.

Nach der Wundversorgung wurden die Tiere dergestalt auf der Objekthalterung des TierPETs positioniert, dass die Striata im Zentrum des FOVs lagen. Die Datenakquisition erfolgte über einen Zeitraum von 36 Minuten (sechs Zeitfenster von jeweils sechsminütiger Dauer) in Winkelschritten von 7.5° (30 s/Winkelschritt). Zwischen der Radioaktivitätsapplikation und dem Beginn der Messungen vergingen 8.1 ± 4.4 Minuten. Die Daten wurden prozessiert, wie in Absatz 2.1.1.2.4. beschrieben. Die Rekonstruktion erfolgte unter Verwendung eines MLEM-Algorithmus' (Lipinski et al., 1997) in aufeinander folgenden Schichten von jeweils 2 mm Dicke.

Datenanalyse. Für jedes Tier wurden die sechs Zeitfenster aufsummiert und das resultierende Summenbild mit dem MPI-Tool (Version 2.57, Advanced Tomo Vision, Erftstadt, BRD) analysiert. Auf der Grundlage des Gehirnatlasses von Paxinos und Watson (Paxinos & Watson, 1986) wurden die Striata auf koronaren Schnittbildern lokalisiert. Um den Mittelpunkt eines jeden Striatums wurde eine kreisförmige ROI mit einem Durchmesser von 2.5 mm gezogen. Die Lage der ROIs wurde für jedes Tier individuell angepasst. Die Studien von Moerlein und Mitarbeitern zeigen, dass etwa 30 Minuten nach Applikation von [^{18}F]FMB das Bindungsequilibrium im Striatum des Affen erreicht ist (Moerlein et al., 1997b); das Nämliche wurde für [^{11}C]CMB im Striatum der Maus nachgewiesen (Suehiro et al., 1990). Auf der Grundlage dieser Befunde wurden die Radioaktivitätskonzentrationen im linken und rechten Striatum über die letzten drei Zeitfenster gemittelt („Late-Time“-Methode, s. Übersichtsarbeit von Ito et al., 1998) und – wie zuvor beschrieben – partialvolumen- und spill-over-korrigiert.

In ihrer autoradiographischen Studie mit [^{123}I]Epidepid als Radioligand beschrieben Kessler und Mitarbeiter kortikale und zerebelläre D_2 -Rezeptorkonzentrationen, die um eine beziehungsweise zwei Größenordnungen gegenüber der striatalen D_2 -Rezeptorkonzentration erniedrigt waren (Striatum: $B_{\text{max}} = 36.7$ fmol/mg, Kortex: $B_{\text{max}} = 1.04$ fmol/mg, Zerebellum: $B_{\text{max}} = 0.37$ fmol/mg; Kessler et al., 1991). Da es aufgrund der niedrigen Radioaktivitätsakkumulation und fehlender anatomischer Information schwierig ist, zerebelläre ROIs auf reproduzierbare Art und Weise zu definieren, wurden die Radioaktivitätskonzentrationen im Okzipitalkortex als Maß für die freie und nicht-spezifische Radioligandenbindung im Gehirngewebe betrachtet. Da Spill-over aus den Harderschen Drüsen zu den im Kortex gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen beitragen kann, ist es nicht möglich, diese durch einfache ROI-Definition auf koronalen oder

transversalen Schnittbildern zu bestimmen. Stattdessen wurden die wechselseitigen Beeinflussungen der einzelnen Regionen abgeschätzt, indem für jede Seite des Rattenkopfes Linienaktivitätsprofile durch Orbita, Striatum und die angrenzende Kortexregion gelegt wurden (Abb. 7A). Im Anschluss wurde die Gauss'sche Modellfunktion

$$y = A_{HD} \exp -0.5[(x-m_{HD})/s_{HD}]^2 + A_{STR} \exp -0.5[(x-m_{STR})/s_{STR}]^2 + A_{KOR} \exp -0.5[(x-m_{KOR})/s_{KOR}]^2$$

an die Linienaktivitätsprofile angepasst mit A_{HD} , A_{STR} und A_{KOR} als Normalisierungsfaktoren, m_{HD} , m_{STR} und m_{KOR} als x-Koordinaten der Aktivitätsmaxima und s_{HD} , s_{STR} und s_{KOR} als die FWHM-Werte der glandulären, striatalen und kortikalen Kurven. Die entstandene Summenfunktion wurde in die Einzelkomponenten „striatale“, „retroorbitale“ und „kortikale“ Aktivität zerlegt (Abb. 7B). Die Überlappung zwischen striataler und glandulärer Kurve wurde als Maß für das Spill-over zwischen den beiden Regionen betrachtet; die Spill-over-Korrektur erfolgte, wie in Kapitel 2.1.2.2.4. beschrieben. Die kortikale Kurve lieferte einen Schätzwert für die freie und nicht-spezifisch gebundene Radioligandenkonzentration im Gehirngewebe.

Aus den zerfallskorrigierten striatalen und kortikalen Radioaktivitätskonzentration (MBq/cm^3) und den bekannten spezifischen Aktivitäten zu Beginn des vierten Zeitfensters (MBq/nmol) wurden die molaren striatalen und kortikalen Radioligandenkonzentrationen (fmol/mg) berechnet. Für jedes Tier wurde die molare kortikale Radioligandenkonzentration von den molaren linken und rechten striatalen Radioaktivitätskonzentrationen subtrahiert, um die spezifisch gebundenen Radioligandenkonzentrationen zu erhalten; diese wurde im Anschluss über linkes und rechtes Striatum gemittelt.

Für die nicht-lineare Regressionsanalyse (GraphPad Prism für Windows, Version 3.0, GraphPad Software, San Diego, USA) wurden Sättigungsbindungskurven generiert, indem die hyperbolische Funktion $y = \frac{B_{\max} x}{K_D + x}$ an den Datensatz angepasst wurde; dabei entsprachen x und y den freien (nmol/l) beziehungsweise spezifisch gebundenen (fmol/mg) Radioaktivitätskonzentrationen [L] und [LR]. Für die erhaltenen K_D - und $B_{\max}$ -Werte werden Standardabweichungen (SDs) angegeben, die Funktionen der Freiheitsgrade, des Abstandes der Datenpunkte von der angepassten Kurve und der allgemeinen Form der Kurve darstellen. Des weiteren werden die Varianzkoeffizienten (%CV) als Maß für die Identifizierbarkeit der

Parameter mitgeteilt. Die Güte der Anpassung wurde durch Berechnung des Korrelationskoeffizienten R^2 bestimmt; diese erfolgte durch Division der Quadratsumme der vertikalen Abstände zwischen den Datenpunkten und der angepassten Kurve durch die Quadratsumme der Abstände zwischen den Datenpunkten und einer horizontalen Linie durch den Mittelwert aller y-Werte. Für die lineare Regressionsanalyse wurde die Geradengleichung $y' = -\frac{1}{K_D} x' + \frac{B_{\max}}{K_D}$ an die Scatchard-transformierten Daten angepasst, wobei x' und y' [LR] beziehungsweise [LR]/[L] entsprachen. $B_{\max}$ wird dabei durch den x-Achsen-Abschnitt der Scatchard-Geraden wiedergegeben, während die Steigung $-1/K_D$ ist. Neben K_D und $B_{\max}$ werden MWs und SDs für die Steigung und den y-Achsenabschnitt mitgeteilt. Die Güte der Anpassung wurde durch Berechnung des Korrelationskoeffizienten r^2 bestimmt.

2.1.2.2.4. *In vitro* Autoradiographie

Nach Inhalationsanästhesie mit Isofluran wurden die Ratten durch Genickbruch getötet. Die Gehirne wurden entfernt und in Isopentan (-70°C) tiefgefroren. Objektträger wurden mit L-Polylysin-Hydrobromid (Sigma, Taufkirchen, BRD; 1 mg/ml Aqua_{bidest}) beschichtet (Inkubationsdauer: 20 Minuten) und über Nacht bei Zimmertemperatur getrocknet. Von 2.2 mm vor bis 2.3 mm hinter Bregma (Paxinos & Watson, 1986) wurden transversale Gefrierschnitte (CM3050, Leica Camera AG, Solms, BRD) von 20 μm Dicke angefertigt und auf die Objektträger aufgebracht. Die Schnitte wurden luftgetrocknet und bei -4 bis -8°C gelagert.

Die Gehirnschnitte wurden bei Zimmertemperatur 60 Minuten lang mit 0.36 nmol/l [^{18}F]FMB (spezifische Aktivität $> 75 \text{ TBq/mmol}$) und steigenden Konzentrationen unmarkierten (3-N-Methyl)Benperidols in 50 mmol/l Tris-HCl-Puffer (pH 7.4) inkubiert. Die Pufferlösung enthielt zudem 120 mmol/l NaCl, 5 mmol/l KCl, 2 mmol/l CaCl_2 -Dihydrat, 1 mmol/l MgCl_2 -Hexahydrat und 0.2 $\mu\text{mol/l}$ Idazoxan-Hydrochlorid. Nach der Inkubation wurden die Objektträger zweimal für die Dauer von jeweils 5 Minuten in eisgekühlter Pufferlösung gewaschen. Nach kurzem Eintauchen in eisgekühltes Aqua_{bidest} wurden die Gehirnschnitte in einem kühlen Luftstrom getrocknet.

In vivo wurde die spezifische Bindung durch Subtraktion der freien, das heißt, kortikalen Radioligandenkonzentration von der Gesamtbindung bestimmt (s. Kapitel 2.1.2.2.3). *In vitro* wurde die spezifische Bindung zum Zweck der Validierung zum einen durch gemeinsame

Inkubation mit dem Radioliganden und 10 µmol/l Racloprid bestimmt. Zum zweiten wurde die kortikale Radioaktivität – in Analogie zur Auswertung der PET-Bilder – als Abschätzung für die nicht-spezifische Bindung betrachtet. Radioaktivitätsstandards wurden aus Rinderkortex hergestellt; dabei wurde [¹⁸F]FMB in steigenden Konzentrationen (37 - 740 kBq/g Gewebe [Nassgewicht]) in Eppendorf-Gefäße mit dem entsprechend portionierten Hirngewebe eingebracht. Nach manueller Homogenisierung der Standards wurden Gefrierschnitte von 20 µm Dicke angefertigt.

Wie unter 2.1.1.2.5. beschrieben, wurden BaFBR:Eu²⁺-beschichtete Bildplatten (SR 2015, Fuji Medical Systems, Clichy, Frankreich) für 17 Stunden den striatalen Schnitten und Rinderhirnstandards ausgesetzt. Nach der Exposition wurden die Platten mit einem Hochleistungs-IPR (BAS5000, Fuji Medical Systems, Clichy, Frankreich; räumliche Auflösung: 25 µm) gescannt. Die resultierenden Bilder wurden mit dem Advanced Image Data Analyzer (AIDA 2.3.0.1, Raytest Isotopenmessgeräte GmbH, Straubenhardt, BRD) analysiert. ROIs wurden im zentralen Striatum und im frontoparietalen Kortex definiert (Fläche: 1.36 ± 0.4 mm² beziehungsweise 2.5 ± 1.6 mm²).

Für jedes Tier wurden die linken und rechten zerfallskorrigierten striatalen und kortikalen Radioaktivitätsakkumulationen pro mm² gemittelt und in Radioligandenkonzentrationen (fmol/mg Gewebe [Nassgewicht]) umgerechnet. Nach Subtraktion der nicht-spezifischen Bindung wurden MWs und SDs der spezifischen Bindung für jede Radioligandenkonzentration in der Inkubationslösung berechnet (0.36 – 5.36 nmol/l: n = 6; 10.36 – 50.36 nmol/l: n = 5; 100.36 nmol/l: n = 4). Analog zu den *in vivo* Experimenten wurden Sättigungsbindungskurven generiert, indem die hyperbolische Funktion $y = \frac{B_{\max}x}{K_D + x}$ an den Datensatz angepasst wurde;

dabei entsprachen x und y den freien beziehungsweise spezifisch gebundenen Radioaktivitätskonzentrationen [L] und [LR]. Für K_D und B_{max} werden SDs angegeben. Des weiteren werden die Varianzkoeffizienten (%CV) als Maß für die Identifizierbarkeit der Parameter mitgeteilt. Die Güte der Anpassung wurde durch Berechnung des Korrelationskoeffizienten R² bestimmt. Für die lineare Regressionsanalyse wurde die Geradengleichung $y' = -\frac{1}{K_D}x' + \frac{B_{\max}}{K_D}$ an die Scatchard-transformierten Daten angepasst, wobei x' und y' [LR] beziehungsweise [LR]/[L] entsprachen. B_{max} wird dabei durch den x-Achsen-

Abschnitt der Scatchard-Geraden wiedergegeben, während die Steigung $-1/K_D$ ist. Neben K_D und $B_{\max}$ werden MWs und SDs für die Steigung und den y-Achsenabschnitt mitgeteilt. Die Güte der Anpassung wurde durch Berechnung des Korrelationskoeffizienten r^2 bestimmt.

2.1.2.3. Ergebnisse

PET. Die mittlere striatale Radioaktivitätskonzentration betrug 0.36 ± 0.12 kBq/mm³ (MW $\pm$ SD), während die mittlere striatale Radioligandenkonzentration bei 18.3 ± 9.8 fmol/mg lag. Nach Subtraktion der kortikalen (freien) Radioligandenkonzentration (7.9 ± 4.3 fmol/mg) betrug die mittlere spezifische Bindung 10.3 ± 5.7 fmol/mg mit Werten zwischen 2.1 und 21.3 fmol/mg. Zwischen der injizierten molaren Menge von [¹⁸F]FMB und der kortikalen (freien) Radioligandenkonzentration bestand eine lineare Beziehung ($r = 0.72$).

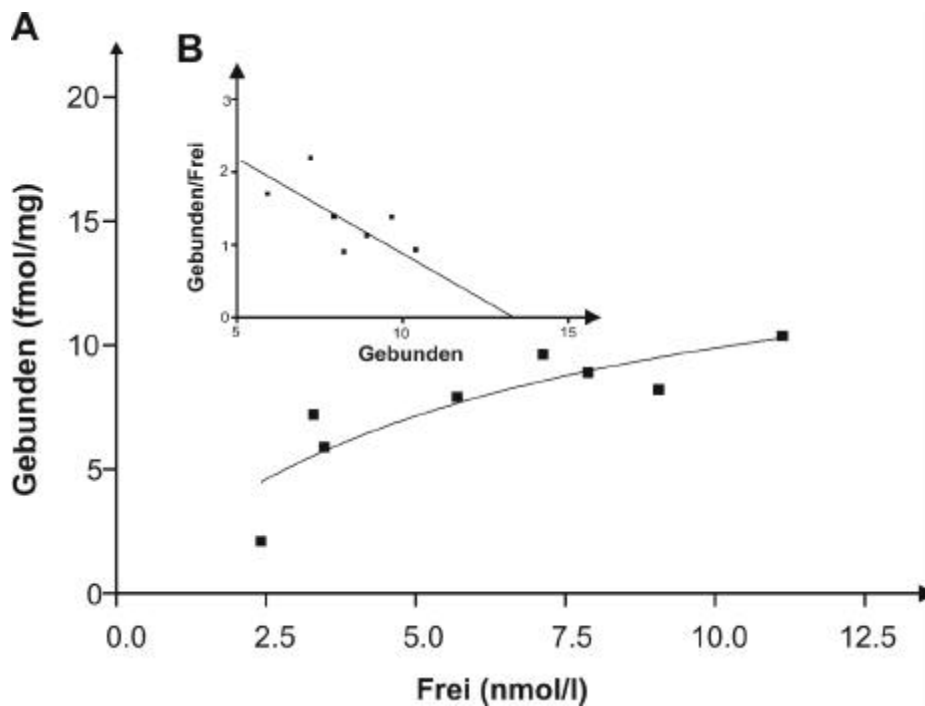


Abb. 11. *In vivo* Sättigungsbindungsanalyse der [¹⁸F]FMB-Bindung an den striatalen D₂-Rezeptor (n = 8). (A) Nicht-lineare Regressionsanalyse der [¹⁸F]FMB-Bindung an den striatalen D₂-Rezeptor ($K_D = 6.2$ nM, $B_{\max} = 16.03$ fmol/mg). Als Abschätzung für den Konzentrationsparameter diente die freie Radioligandenkonzentration. (B) Scatchard-Analyse ($K_D = 5$ nM, $B_{\max} = 15.3$ fmol/mg). Nach Nikolaus et al., 2003a.

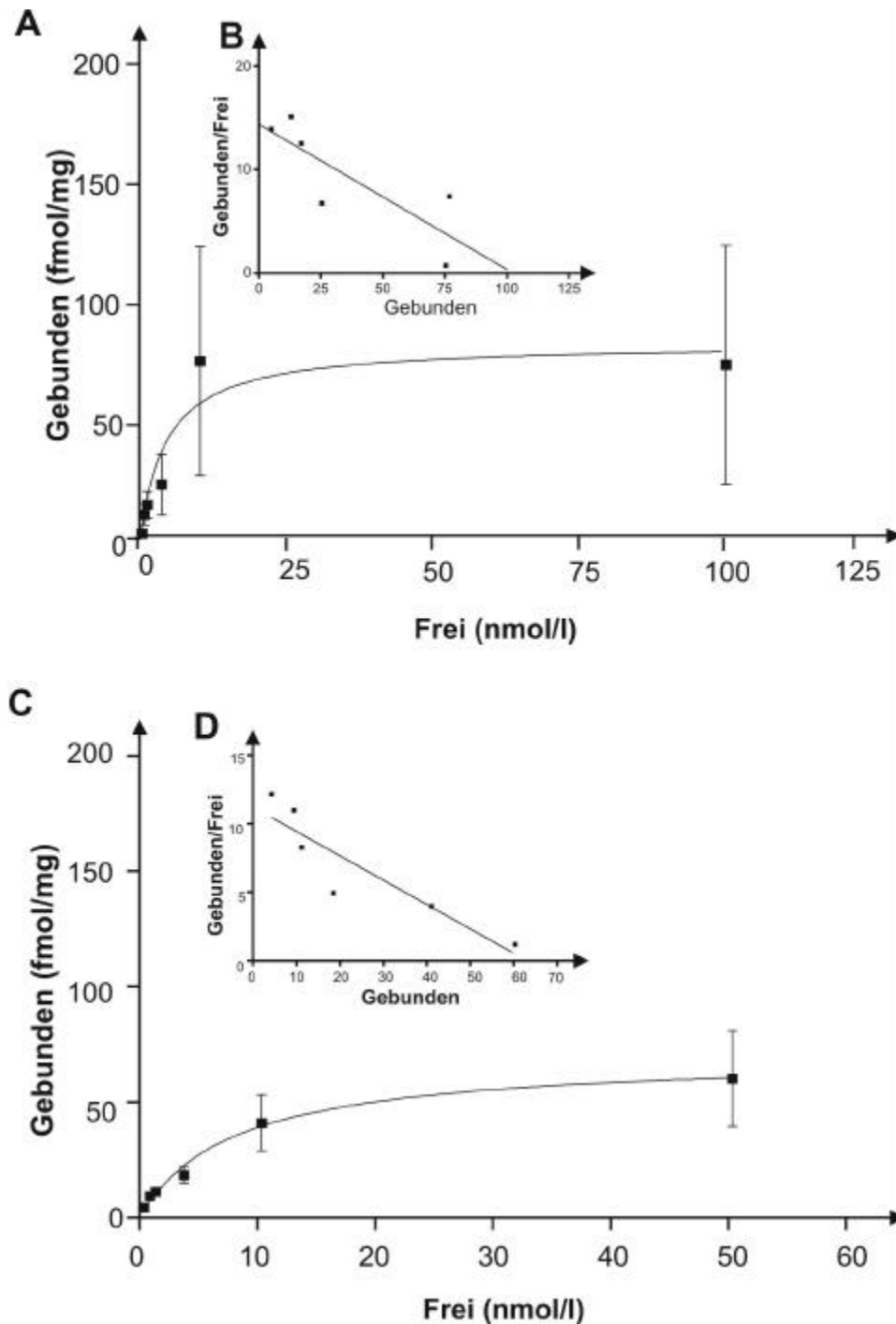


Abb. 12. *In vitro* Sättigungsbindungsanalyse der $[^{18}\text{F}]$ FMB-Bindung an den striatalen D_2 -Rezeptor ($n = 7$). Die nicht-spezifische Bindung wurde durch Inkubation mit $[^{18}\text{F}]$ FMB und dem hoch-selektiven Kompetitor Racloprid (10 $\mu\text{mol/l}$) und in Analogie zu der Sättigungsbindungsanalyse der *in vivo* Daten durch Bestimmung der kortikalen Radioaktivitätskonzentrationen ermittelt. (A) Nicht-lineare Regressionsanalyse nach Subtraktion der $[^{18}\text{F}]$ FMB-Bindung in der Anwesenheit von Racloprid ($K_D = 4.4 \text{ nM}$, $B_{\text{max}} = 84.1 \text{ fmol/mg}$). (B) Scatchard-Analyse nach Linearisierung der Bindungsdaten ($K_D = 7.1 \text{ nM}$, $B_{\text{max}} = 102.4 \text{ fmol/mg}$). (C) Nicht-lineare Regressionsanalyse nach Subtraktion der Radioligandenkonzentrationen im Okzipitalkortex ($K_D = 7.9 \text{ nM}$, $B_{\text{max}} = 70.1 \text{ fmol/mg}$). (D) Scatchard-Analyse nach Linearisierung der Bindungsdaten ($K_D = 5.6 \text{ nM}$, $B_{\text{max}} = 63 \text{ fmol/mg}$). Wiedergegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichungen. Nach Nikolaus et al., 2003a.

Die nicht-lineare Regressionsanalyse mit der Radioligandenkonzentration im Okzipitalkortex als Abschätzung für den Konzentrationsparameter (Abb. 11A) ergab einen K_d von 6.2 nM (SD: 3.8 nM, %CV: 61.3) und ein B_{max} von 16 fmol/mg (SD: 4.7 fmol/mg; %CV: 29.4; Figure 2). R^2 betrug 0.76. Nach Linearisierung der Daten ergab die Regressionsanalyse des Scatchard-Plots (Abb. 11B) einen K_d - und einen B_{max} -Wert von 5 nM beziehungsweise 15.3 fmol/mg (Steigung: -0.2 ± 0.1 , y-Achsen-Abschnitt: 3 ± 0.9 fmol/mg). Der Korrelationskoeffizient r^2 betrug 0.43.

Autoradiographie. Die mit der *in vitro* Storage-Phosphor-Autoradiographie gemessene mittlere striatalen Radioaktivitätskonzentration betrug 0.5 ± 0.2 kBq/mm³. Die MWs der striatalen Gesamtradioligandenkonzentrationen ($[^{18}F]$ FMB + „kalter“ Ligand) lagen zwischen 9.6 ± 1.1 fmol/mg (Inkubationslösung: 0.36 nM) und 1.4 ± 0.1 pmol/mg (Inkubationslösung: 100.36 nM). Nach Subtraktion der striatalen Benperidol-Bindung in der Anwesenheit von Racloprid lag die mittlere spezifische Bindung zwischen 5 ± 1.8 fmol/mg (Inkubationslösung: 0.36 nM) und 75.2 ± 49.6 fmol/mg (Inkubationslösung: 100.36 nM). Wurde zur Bestimmung der spezifischen Bindung die kortikale Benperidol-Bindung subtrahiert, lagen die Mittelwerte zwischen 4.4 ± 0.8 fmol/mg (Inkubationslösung: 0.36 nM) und 154.2 ± 95.7 fmol/mg (Inkubationslösung: 100.36 nM).

Die nicht-lineare Regressionsanalyse der Bindungsdaten nach Subtraktion der Benperidol-Bindung in der Anwesenheit von Racloprid (Abb. 12A) ergab einen K_D von 4.4 nM (SD: 2.1 nM, %CV: 47.7) und ein B_{max} von 84.1 fmol/mg (SD: 10.98 fmol/mg, %CV: 13.1). R^2 betrug 0.98. In Abb. 12B sind die Bindungsdaten in Form eines Scatchard-Plots dargestellt ($K_D = 7.1$ nM, $B_{max} = 102.4$ fmol/mg, Steigung: -0.1 ± 0.05 , y-Achsen-Abschnitt: 14.4 ± 2.2 fmol/mg, r^2 : 0.68).

Die nicht-lineare Regressionsanalyse der Bindungsdaten nach Subtraktion der Radioaktivitätskonzentration im Okzipitalkortex (Abb. 12C) ergab einen K_D von 7.9 nM (SD: 1.2, %CV: 15.2) und ein B_{max} von 70.1 fmol/mg (SD: 3.8 fmol/mg, %CV: 5.4). R^2 lag bei 0.998. Nach der Linearisierung (Abb. 12D) ergaben sich ein K_D - und ein B_{max} -Wert von 5.6 nM beziehungsweise 63 fmol/mg (Steigung: -0.18 ± 0.04 , y-Achsen-Abschnitt: 11.2 ± 1.3 fmol/mg, r^2 : 0.83).

2.1.2.3. Diskussion

Die *in vivo* mit PET und *in vitro* mit der Methode der Storage-Phosphor-Autoradiographie erhaltenen K_D - und B_{max} -Werte von [^{18}F]FMB betrugen 6.2 und 4.4 nM beziehungsweise 16 und 84 fmol/mg. Die Daten zeigten auch dann eine gute Übereinstimmung, wenn – in Analogie zur PET-Auswertung – die kortikale statt der striatalen Benperidol-Bindung in der Anwesenheit von Racloprid als Maß für die nicht-spezifische Bindung betrachtet wurde ($K_D = 7.9$ nM, $B_{max} = 70$ fmol/mg). Ungeachtet der methodischen Unterschiede erbrachten die Sättigungsbindungsanalysen in der Art und Weise, in der sie hier durchgeführt wurden, nahezu identische K_D - und B_{max} -Werte. Diese Übereinstimmung der Ergebnisse zeigt, dass K_D und B_{max} mit dedizierten Kleintier-PET-Kameras an der lebenden Ratte analog zu *in vitro* Sättigungsbindungsstudien bestimmt werden können.

K_D und B_{max} wurden bislang nicht separat für die Bindung von [^{18}F]FMB an den D_2 -Rezeptor der Ratte bestimmt. Die in dieser Studie mit PET und Storage-Phosphor-Autoradiographie ermittelten K_D -Werte stimmen jedoch mit den K_i -Werten überein, die Moerlein beziehungsweise Suehiro und Mitarbeiter für das Primaten- ($K_i = 3.6$ nM) und Mäusestriatum ($K_i = 5.2$ nM) angeben (Suehiro et al., 1990, Moerlein et al., 1992a). Diese Übereinstimmung der Zahlenwerte ist in Anbetracht der Unterschiede zwischen den Spezies und den angewendeten Methoden bemerkenswert; so stehen sich hier zum einen *in vivo* PET und *in vitro* Autoradiographie und zum anderen Studien an Gehirnschnitten der Ratte und Membranhomogenatstudien an Affe und Maus gegenüber. Überdies liegt der Bestimmung des K_i -Wertes grundsätzlich ein völlig anderes experimentelles Paradigma zugrunde: so wurde in den zitierten Untersuchungen (Suehiro et al., 1990, Moerlein et al., 1992a) [^{18}F]FMB als Kompetitor um die D_2 -Rezeptorbindung von Spiroperidol eingesetzt, während in unserer *in vitro* Studie der K_D -Wert von [^{18}F]FMB in Konkurrenz mit Racloprid bestimmt wurde.

In der gegenwärtigen Studie wurden kortikale statt zerebelläre Radioaktivitätskonzentrationen als Abschätzung für die freie und nicht-spezifische Radioligandenkonzentration verwendet. In ihrer autoradiographischen Untersuchung mit [^{123}I]Epideprid als Radioligand fanden Kessler und Mitarbeiter, dass die kortikalen und zerebellären D_2 -Rezeptorkonzentrationen um eine beziehungsweise zwei Größenordnungen gegenüber der striatalen D_2 -Rezeptorkonzentration erniedrigt waren (Striatum: $B_{max} = 36.7$

fmol/mg, Kortex: $B_{\max} = 1.04$ fmol/mg, Zerebellum: $B_{\max} = 0.37$ fmol/mg; Kessler et al., 1991). Da es aufgrund der niedrigen Radioaktivitätsakkumulation und fehlender anatomischer Information schwierig ist, zerebelläre ROIs auf reproduzierbare Art und Weise zu definieren, entschieden wir uns, die kortikalen Radioaktivitätskonzentrationen als Maß für die freie und nicht-spezifische Radioligandenbindung im Gehirngewebe zu betrachten. Dabei wurde der Okzipitalkortex als Referenzregion gewählt, da frühere Untersuchungen einen anterioposterioren Gradienten in der D₂-Rezeptorbindung zeigten, wobei die frontale die okzipitale D₂-Rezeptordichte um das Dreifache überstieg (Lidow et al., 1989). Aufgrund dieser niedrigen D₂-Rezeptordichte ist die Annahme gerechtfertigt, dass die im Okzipitalkortex gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen einen validen Schätzwert für die freie und nicht-spezifische Radioligandenkonzentration im Gehirngewebe liefern.

In unserer Untersuchung stimmten die K_D -Werte unabhängig davon überein, ob eine *in vivo* oder eine *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse durchgeführt wurde. Dabei bestand der wesentliche Unterschied in der Bestimmung der spezifischen Bindung: in der autoradiographischen Studie erfolgte dieselbe durch Inkubation des D₂-rezeptorreichen Gewebes mit [¹⁸F]FMB und dem selektiven Liganden Racloprid in mikromolarer Konzentration. *In vivo* wurde die kortikale Radioaktivität als Maß für die freie Radioligandenkonzentration und nicht-spezifische Bindung betrachtet, wobei die Annahme der Austauschbarkeit des freien und nicht-spezifischen Kompartimentes auf dem Standardmodell der Radiotracer-Kinetik beruht (Moerlein et al., 1997). Um die Vergleichbarkeit der *in vivo* und *in vitro* erhaltenen Resultate zu erhöhen, wurde diese Abschätzungsmethode für die spezifische Bindung auch auf die autoradiographischen Daten angewendet. Die Bestimmung der spezifischen Bindung durch Subtraktion der kortikalen Bindung führte jedoch *in vitro* zu ähnlichen Ergebnissen wie die Bestimmung der spezifischen Bindung durch Subtraktion der [¹⁸F]FMB-Bindung in der Anwesenheit von Racloprid von der Gesamtbindung; ebenso stimmten die *in vivo* und *in vitro* mit dem Kortex als freies und spezifisches Kompartiment ermittelten K_D -Werte überein.

In den zuvor mit [¹⁸F]FMB und seinen Strukturanaloga durchgeführten Untersuchungen (Suehiro et al., 1990, Moerlein et al., 1992a, b) wurden keine $B_{\max}$ -Werte mitgeteilt. In unserer Studie übte die Abschätzungsmethode für die nicht-spezifische Bindung keinerlei Einfluss auf die Ergebnisse der *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse aus: nach Bestimmung der spezifischen Bindung durch Subtraktion der Radioligandenbindung in der Anwesenheit von Racloprid betrug

$B_{\max}$ 84 fmol/mg, während sich nach Subtraktion der kortikalen von der striatalen Bindung ein $B_{\max}$ von 70 fmol/mg ergab. Die *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse ergab indessen ein beträchtlich niedrigeres $B_{\max}$, das jedoch in der gleichen Größenordnung lag. Ähnliche Resultate wurden von Hume und Mitarbeitern berichtet, die mit dem RATPET und mit einem Gammazähler nach *post mortem* Dissektion gemessene intrazerebrale Radioaktivitätskonzentrationen verglichen (Hume et al., 1996).

In vivo und *in vitro* Methode zeigten mit R^2 -Werten von 0.76 und 0.98 Unterschiede in der Güte der Anpassung. Überdies unterschied sich das Ausmaß der Varianz zwischen den Methoden: so ergaben sich für die *in vivo* ermittelten K_D - und $B_{\max}$ -Werte höhere (61 beziehungsweise 29%) %CVs als für die *in vitro* ermittelten (48 beziehungsweise 13%). Wurde die kortikale Benperidol-Bindung als Maß für die nicht-spezifische Bindung betrachtet, so resultierten noch niedrigere %CV-Werte (15 beziehungsweise 5%). Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass mit PET nur ein Tier pro molare Konzentration gemessen wurde, während bei der *in vitro* Studie vier bis sechs Tiere pro molarer Konzentration in die nicht-lineare Regressionsanalyse eingingen. Dabei wurde die Güte der Anpassung im autoradiographischen Experiment durch die höhere Anzahl der Tiere als solche verbessert, nicht aber durch den Umstand, dass die Bestimmung von K_D und $B_{\max}$ durch Anpassung an die Mittelwerte und Standardabweichungen statt an die individuellen striatalen Radioligandenkonzentrationen der einzelnen Tiere erfolgte: wurden nämlich die Einzelwerte einer Regressionsanalyse unterzogen, so ergaben sich K_D - und $B_{\max}$ -Werte von 5.07 nM und 87.11 fmol/mg mit Standardabweichungen von 5.66 nM beziehungsweise 33.83 fmol/mg. Die %CV-Werte betrugen 46 beziehungsweise 16%. Mithin blieben die Ergebnisse auch dann in der gleichen Größenordnung, wenn diese Auswertemethode für die Storage-Phosphor-Autoradiographie gewählt wurde.

Bei einem Vergleich von *in vivo* mit *in vitro* Befunden müssen verschiedene Punkte in Betracht gezogen werden. Hierzu gehört zum einen der Umstand, dass *in vivo* keine anatomische Koregistrierung und infolgedessen keine exakte Bestimmung der anterioposterioren stereotaktischen Koordinaten möglich ist. Folglich ist bei der Auswertung der PET- und Autoradiographie-Daten keine exakte Übereinstimmung hinsichtlich der anterioposterioren Schnittebene gewährleistet; aufgrund der bestehenden regionalen Unterschiede in der D_2 -Rezeptordichte bietet dieser Mangel an Übereinstimmung eine Erklärung für den beobachteten Unterschied zwischen den *in vivo* und *in vitro* erhaltenen $B_{\max}$ -Werten. Überdies haben die zuvor

mit dem TierPET durchgeführten Phantomstudien gezeigt, dass die Radioaktivität in einer Zielregion mit einem Durchmesser von 2.5 mm – mithin in der Größenordnung der striatalen Durchmesser auf den für die ROI-Definition verwendeten koronaren Schnittbildern – infolge des Partialvolumeneffektes um etwa 60% unterschätzt wird. Auf der Grundlage dieser Messungen wurden die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen korrigiert; dabei war der verwendete Korrekturfaktor für alle Messungen gleich und wurde nicht individuell für den tatsächlichen striatalen Durchmesser auf den für die ROI-Definition verwendeten koronaren Schnittbildern bestimmt. Im Falle eines Unterschreitens des striatalen Durchmessers von 2.5 mm würde der verwendete Korrekturfaktor mithin im Vergleich zur partialvolumeneffektunabhängigen autoradiographischen Messung zu einer Unterschätzung der striatalen Radioaktivitätskonzentration geführt haben. Es ist nicht von der Hand zu weisen, dass dies bei manchen Tieren der Fall war, da die Schnittbilder nicht nur nach Maßgabe der Lokalisation des striatalen Aktivitätsmaximums für die ROI-Definition ausgewählt wurden, sondern dabei auch Sorge getragen wurde, das Spill-over aus der angrenzenden Retroorbitalregion nach Möglichkeit zu minimieren. Infolgedessen wurden die ROIs *in vivo* innerhalb der mittleren bis kaudalen striatalen Anteile definiert, während *in vitro* Radioaktivitätskonzentrationen aus allen Teilen des Striatums in die $B_{\max}$ -Bestimmung eingingen.

In der gegenwärtigen Studie stimmten die K_D -Werte überein, während die $B_{\max}$ -Werte lediglich in der gleichen Größenordnung lagen. Dabei beeinflusst die Platzierung der ROIs notwendigerweise $B_{\max}$, während der K_D für alle Rezeptoren desselben Subtyps - unabhängig von dem für die ROI-Definition ausgewählten striatalen Anteil - gleich ist. Im Gegensatz hierzu beeinflussen ungenaue Bestimmungen der freien Radioligandenkonzentration sowohl $B_{\max}$ als auch K_D . Aus der Tatsache, dass die K_D -Werte in der hier dargestellten Untersuchung übereinstimmten, folgt somit, dass die mangelnde Übereinstimmung in der ROI-Platzierung den größeren Einfluss auf die Bestimmung der Rezeptorkinetik ausübte.

Ein weiterer Faktor von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist die Anästhesie, die die in der Zielregion gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen unabhängig von der verwendeten Kamera beeinflussen kann. So haben Untersuchungen gezeigt, dass Ketavet und Xylazin die spezifische Bindung des SERT-Liganden [^3H](S)-Citalopram und des DAT-Liganden [^{125}I]PE2I reduzieren (Elfving et al., 2003), Ketamin allein aber die des D_2 -Rezeptorliganden [^{11}C]MSP-Bindung erhöht (Onoe et al., 1994). Da für andere Anästhetika (Isofluran, Halothan: Ishiwata et

al., 1999, Elfving et al., 2003, Ma et al., 2004; Pentobarbital: Onoe et al., 1994) ähnliche Beeinflussungen der Bindung unterschiedlicher Liganden beschrieben wurden, führten wir unsere Untersuchungen ungeachtet der beschriebenen Effekte von Ketavet und Xylazin mit diesen Substanzen als Anästhetika durch. Damit ist nicht von der Hand zu weisen, dass Ketavet/Xylazin auch in unserer Untersuchung in Analogie zur [^{11}C]MSP-Bindung an den D₂-Rezeptor zu einer Erhöhung der [^{18}F]FMB-Bindung im Striatum der Ratte führte. Da die Tiere, mit denen die *in vitro* Autoradiographie durchgeführt wurde, lediglich eine Kurzzeit-Isofluran-Anästhesie erhielten, ist es denkbar, dass die Verwendung des Ketavet/Xylazin-Gemisches bei den *in vivo* Untersuchungen eine weitere Ursache für die im Vergleich zur *in vitro* Autoradiographie niedrigeren B_{max}-Werte darstellt.

Die Genauigkeit unserer Methode hängt von der Richtigkeit der Annahme ab, dass C₂ und C₂' zu einem Kompartiment zusammengefasst werden können. Wir leiten [L], das heisst, die freie und nicht-spezifisch gebundene Radioligandenkonzentration, aus der kortikalen REF ab. Mithin ergibt sich BP aus ([LR]/[L])-1. [L] entspricht dabei C₂ + C₂'; dadurch geht die nicht-spezifisch gebundene Radioligandenkonzentration zusätzlich zur freien Radioligandenkonzentration in den Nenner ein. Infolgedessen wird die Genauigkeit der Parameterschätzung durch die Tatsache beeinträchtigt, dass der freie Ligandenanteil in C₂, f₂, nicht exakt bestimmt zu werden vermag. In Wahrheit bestimmen wir mit unserer Methode B_{max}' (= f₂ x B_{max}) und unterschätzen dadurch B_{max} konsistent.

Da beim vereinfachten Referenzgewebemodells eine REF für die Abschätzung von C₂ + C₂' verwendet wird, kann bei dieser Methode auch der Anteil des nicht-spezifisch gebundenen Radioliganden zu einer Unterschätzung des BPs führen: in den *in vivo* Kleintier-PET-Untersuchungen zur Rezeptor- und Transporterkinetik, bei denen die Auswertung unter Anwendung des vereinfachten Referenzgewebe-Modells erfolgte (Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, 1998, Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, 1998, Fricker et al., 1997, Sullivan et al., 1998, Araujo et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b, Umegaki et al., 2002, Kawamura et al., 2003, Inaji et al., 2005), wurde nämlich anstelle von B_{max}/K_D f₂B_{max}/K_D als Äquivalent des BPs berechnet. Beim dynamischen Modell (Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998) wird der Rezeptorparameter $k_3 = k_{on} (B_{max} - \frac{C_3(t)}{SA}) f_2$ bestimmt, wobei SA die spezifische Aktivität des Radioliganden bezeichnet. Ist SA hoch, und wird der Radioligand in

Tracerdosen verabreicht, dann ist $\frac{C_3(t)}{SA} \ll B_{\max}$, und ein Schätzwert für k_3 ergibt sich durch das Produkt von k_{on} , $B_{\max}$ und der freien Fraktion des Radioliganden f_2 in C_2 . Dabei wird f_2 gemeinhin entweder aus *in vitro* Studien abgeleitet oder an Hand der Kinetik in Geweben ohne spezifische Bindung abgeschätzt. Ist das Letztere der Fall, liefert das Produkt von k_{on} und $B_{\max}$ einen Schätzwert für BP, dessen Güte - wie im Falle der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse und der vereinfachten Referenzgewebemethode - von der Genauigkeit abhängt, mit der f_2 bestimmt zu werden vermag. Ein ähnliches Problem besteht beim nicht-invasiven graphischen Modell (Chen et al., 1977, 1999, Brownell et al., 1998, Nguyen et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Björklund et al., 2002, Cicchetti et al., 2002, Le Masurier et al., 2004, Schiffer et al., 2006), das den Verteilungsvolumenquotienten (DVR) als Schätzwert für BP liefert. Dabei ist $DVR = BP + 1$, wenn die Verteilungsvolumina von REF und C_2 gleich sind (Slifstein & Laruelle, 2001). Mithin führt auch bei dieser Methode die nicht-spezifische Radioligandenbindung zu ungenauen Schätzwerten für BP. Da die Transferkonstante vom nicht-spezifischen Kompartiment zum Plasma, k_2 , für diese Art der Bindungsanalyse erforderlich ist, kann die Güte der BP-Schätzwerte zudem davon abhängen, wie exakt k_2 aus einer unabhängigen Stichprobe abgeleitet zu werden vermag.

Bei der Diskussion möglicher Fehler bei der Parameter-Schätzung muss jedoch ihr Ausmaß im Verhältnis zu anderen methodeninhärenten Fehlerquellen wie Partialvolumen- und Spill-over-Effekt betrachtet werden. Für die nicht-spezifische Bindung gilt zudem, dass sie durch gleichermaßen Gewebe- wie Ligandeneigenschaften gekennzeichnet ist. Da diese weder zwischen den Versuchstieren noch über die Zeit variieren, kann davon ausgegangen werden, dass $f_2 B_{\max}$ und K_D ebenso wie $f_2 B_{\max} / K_D$, $f_2 k_{on} B_{\max}$ und DVR, wie sie aus der Anwendung von *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse, vereinfachtem Referenzgewebemodell, dynamischer Methode und nicht-invasivem graphischem Modell resultieren, als zuverlässige Schätzwerte der in Rede stehenden Rezeptorparameter betrachtet werden können. Dabei besteht der Vorteil der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse darin, dass sie $B_{\max}(\cdot)$ und K_D als separate Werte und direkte Maße für Rezeptordichte und Affinität liefert.

Die *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse stellt eine Equilibriumsmethode dar, die erstmalig von Phelps und Mitarbeitern beschrieben wurde (Phelps et al., 1987). Bislang wurde sie lediglich in einer Studie mit Kleintiertomographen angewendet; dabei applizierten Tsukada und

Mitarbeiter die Radioliganden [^{11}C]SCH23390 und [^{18}F]NMSP zusammen mit jeweils drei unterschiedlichen Mengen des nicht radioaktiv markierten Liganden und analysierten mit Hilfe linearisierter Scatchard-Plots, ob die beobachtete Wirkung von Kokain auf die D_1 - beziehungsweise D_2 -Rezeptorbindung auf Veränderungen von B_{max} oder K_D zurückzuführen wäre (Tsukada et al., 1996). Die Differenzierung zwischen B_{max} - und K_D -induzierten Effekten ist nur ein Beispiel für wissenschaftliche Fragestellungen, für deren Beantwortung die getrennte Bestimmung von B_{max} und K_D erforderlich ist. Ein weiteres Beispiel ist die *in vivo* Evaluierung neuer Radioliganden.

Die *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse vereinigt die Vorteile zweier Konzepte: durch die Anwendung der *in vitro* Methode auf die *in vivo* Bildgebung können K_D und B_{max} einerseits in Analogie zu *in vitro* Experimenten bestimmt werden, während andererseits alle Vorteile der *in vivo* Methode erhalten bleiben; hierzu gehört insbesondere die Möglichkeit, die Rezeptorkinetik nicht an Gefrierschnitten oder Membranhomogenaten als bloße Modelle für das Hirngewebe und die Rezeptoroberfläche, sondern am lebenden Organismus zu untersuchen. Überdies wird ein großer Nachteil der *in vivo* Methode, nämlich der Einsatz unterschiedlicher und niedriger spezifischer Aktivitäten, in einen Vorteil verkehrt, da bei der Durchführung von Sättigungsbindungsanalysen ansteigende Radioligandenkonzentration appliziert werden *müssen*, um die Sättigung der Rezeptoren zu erreichen.

Es besteht jedoch ein grundlegender Unterschied zwischen der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse, die B_{max} und K_D als Ergebnis liefert und den anderen *in vivo* Methoden, vermittels derer BP oder dazu in Beziehung stehende Größen wie die DVR bestimmt werden: bei Anwendung der Sättigungsbindungsmethode müssen verschiedenen Ratten unterschiedliche Radioligandenkonzentrationen appliziert werden, während BP oder DVR mit den anderen *in vivo* Methoden für jede einzelne Ratte mit einer einzigen Radioligandenkonzentration bestimmt werden können. Damit wird bei der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse grundsätzlich eine größere Anzahl von Tieren benötigt, was einen größeren Einfluss der interindividuellen Varianz auf das Messergebnis mit sich bringt. Theoretisch ist es auch möglich, demselben Tier mehr als eine Radioligandenkonzentration zu applizieren; in diesem Fall können B_{max} und K_D für jedes einzelne Tier gesondert bestimmt werden. Zwischen den Untersuchungen sollten jedoch hinreichend lange Zeiträume liegen, um einerseits den völligen Zerfall des applizierten Radioisotops zu ermöglichen und andererseits die

Erholung des Tieres von den Nachwirkungen der Anästhesie und des chirurgischen Eingriffs zu gewährleisten.

2.1.3. Evaluierung des TierSPECTs für die *in vivo* Darstellung von Dopamintransporter- und D₂-Rezeptorbindung³

2.1.3.1. Einleitung

Das TierSPECT wurde in Zusammenarbeit zwischen dem Zentrallabor für Elektronik (Forschungszentrum Jülich GmbH) und der Nuklearmedizinischen Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf entwickelt und im Jahre 2000 vorgestellt (Schramm et al., 2000, Wirrwar et al., 2005a). Die im Folgenden beschriebene, erste TierSPECT-Studie (Nikolaus et al., 2004b) hatte die Evaluierung der Kamera für die Durchführung von DAT- und D₂-Rezeptorbindungsstudien bei der Ratte zum Inhalt.

Bislang wurde erst eine DAT-Bindungsstudie an der Ratte mit [¹²³I]FP-CIT als Radioligand durchgeführt (Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam; Booij et al., 2002). Darüberhinaus wurde die DAT-Bindung mit einer weiteren aufgerüsteten klinischen Kamera (Siemens Orbiter ZLC 3700) und [¹²³I]β-CIT als Radioligand untersucht (Scherfler et al., 2002); in zwei weiteren Studien mit aufgerüsteten SPECT-Kameras wurde überdies die D₂-Rezeptorbindung bei der Ratte mit [¹²³I]IBZM beziehungsweise [¹²³I]Epidepid als Radioligand dargestellt (Scherfler et al., 2005, Sohlberg et al., 2005). Ferner existieren drei Studien an Mäusen, die die DAT- und die D₂-Rezeptorbindung mit [^{99m}Tc]TRODAT und [¹²³I]FP-CIT beziehungsweise [¹²³I]IBF untersuchten (Acton et al., 2002a,b, Andringa et al., 2005). Diese Untersuchungen wurden mit einer aufgerüsteten klinischen Prism 3000 XP (Acton et al., 2002a,b) beziehungsweise dem Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam (Andringa et al., 2005) durchgeführt.

Da auch das Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam auf einem aufgerüsteten klinischen Scanner (ADAC ARC3000) basiert (Habraken et al., 2000), bestand das Ziel der ersten Studie darin, zu zeigen, dass DAT- und D₂-Rezeptorbindung im Striatum der Ratte mit der völlig anders konfigurierten TierSPECT-Kamera (Kristalldicke: 3 mm statt 9.5 mm, Kollimation: Parallelloch- statt Pinholekollimation, Auslesung: ein statt vieler PMTs,

³ Durchführung des Experimentes: TierPET, Dezember 1999; TierSPECT: Januar 2003 – November 2003; Erstpublikation: Oktober 2004

Rekonstruktion: OSEM statt FBP) trotz der schlechteren Performance (Auflösung: 2.8 statt 1.34 mm, Sensitivität: 22 statt 735 cps/MBq) reliabel dargestellt und quantifiziert werden können.

Als Radioliganden wurden [^{123}I]FP-CIT und [^{123}I]IBZM verwendet. Wie das [^{123}I]β-CIT ist auch das [^{123}I]FP-CIT (Abb. 4) ein Kokain-Analogon, bei dem die Esterbindung zwischen der Tropan- und der Phenylhälfte durch eine stabile Kohlenstoffbindung und die N-Methyl- durch eine N-Fluoropropyl-Gruppe ersetzt ist (Neumeyer et al., 1991, 1994). Insgesamt resultieren diese Veränderungen in einer größeren metabolischen Stabilität und einer höheren Affinität für den DAT, wobei insbesondere die Markierung mit ^{123}I durch die stabile Jod-Kohlenstoff-Bindung die *in vivo* Dejodiniierung des Liganden unterbindet.

Aufgrund der großen Strukturähnlichkeit von DAT und SERT bindet [^{123}I]FP-CIT auch mit verhältnismäßig hoher Affinität an den SERT. Für DAT und SERT werden in der Literatur K_i -Werte von 3.5 (Neumayer et al., 1994) beziehungsweise 9.7 nM (Abi-Dargham et al., 1996) angegeben. Hinsichtlich der Selektivität konnte gezeigt werden, dass 10 μmol der spezifischen DAT-Liganden 1-2-[bis(4-Fluorophenyl)methoxy]ethyl-4-[3-phenylpropyl]piperazin-dihydrochlorid (GBR12909) oder Mazindol 80 bis 90% der DAT-Bindung in Nuc. caudatus und Putamen zu blockieren vermögen (Lundkvist et al., 1997). Die Nachweise einer hohen Affinität und Selektivität wurden für den Menschen (Booij et al., 1998) sowie für Mäuse (Scheffel et al., 1997), Ratten (Booij et al., 1997, Lavalaye et al., 2000) und nicht-humane Primaten (Neumeyer et al., 1994, Baldwin et al., 1995, Lundkvist et al., 1995, Booij et al., 1997) erbracht.

[^{123}I]FP-CIT wird größtenteils zu Ioflupansäure hydrolysiert. Hierbei handelt es sich um eine polare Substanz, die die Blut-Hirn-Schranke nicht zu übertreten vermag (Baldwin et al., 1995, Chaly et al., 1996). Ein zweiter lipophiler Metabolit wurde von Lundkvist und Mitarbeitern beschrieben und von Baldwin und Kollegen als das Glucoronidkonjugat der Ioflupansäure identifiziert (Lundkvist et al., 1995, Baldwin et al., 1995). Baldwin und Mitarbeiter konstatierten ebenfalls jegliches Fehlen einer Dejodiniierung *in vivo* (Baldwin et al., 1995). Insgesamt legt der gegenwärtige Stand der Forschung nahe, dass die Metaboliten von [^{123}I]FP-CIT nicht mit der *in vivo* Bildgebung des DAT interferieren (Baldwin et al., 1995, Lundkvist et al., 1995, Coenen et al., 1995).

Die Clearance von [^{123}I]FP-CIT aus dem Blut erfolgt rasch; bereits fünf Minuten nach Applikation sind 95% der injizierten Dosis aus dem Blut entfernt; zehn Minuten nach Applikation werden die höchsten Radioaktivitätskonzentrationen in Lunge, Leber und Gehirn

gemessen. Die langen Verweilzeiten in der Lunge sind dabei wahrscheinlich auf effektives Trapping in den Lungenkapillaren zurückzuführen. Die Ausscheidung erfolgt zu 60% über die Niere und zu 14% über das hepatobiliäre System. Beim Menschen beträgt die ins Gehirn aufgenommene Menge etwa 7% der injizierten Dosis (Booij et al., 1998). Das Equilibrium der [^{123}I]FP-CIT-Bindung wird im Striatum zwei Stunden nach Applikation erreicht; das Verhältnis zwischen spezifischer und nicht-spezifischer Bindung bleibt für die folgenden sechs Stunden konstant (Seibyl et al., 1998, Booij et al., 1999).

[^{123}I]IBZM (Abb. 4) ist ein substituiertes 6-Methoxysalicylamid (de Paulis et al., 1985, 1988), das sich von dem Benzamid Sulpirid lediglich darin unterscheidet, dass in den aromatischen Ring eine Hydroxylgruppe eingeführt und die Sulfonamidgruppe durch ^{123}I substituiert wurde. *In vivo* Verdrängungsstudien mit Spiperon, HAL und 6-Fluorodopamin zeigten die selektive Bindung von [^{123}I]IBZM für den D_2 -Rezeptorsubtyp (Singhaniyom et al., 1988, Kung et al., 1988, Verhoeff et al., 1991a). [^{123}I]IBZM bindet mit hoher Affinität an den D_2 -Rezeptor: so wurden für die striatalen Membranen der Ratte K_D -Werte von 1.2 nM (de Paulis et al., 1988) und 0.28 (Verhoeff et al., 1991) ermittelt, während sich für striatale Membranhomogenate sowohl des Schweines als auch der Maus ein K_D -Wert von 0.56 nM ergab (Brücke et al., 1988); für Putamen- und Caudatusmembranen des Menschen liegt der K_D bei 0.49 nM (Verhoeff et al., 1991a).

[^{123}I]IBZM ist eine stark lipophile Substanz; innerhalb von dreißig Minuten wird der applizierte Radioligand vollständig in zwei hydrophile Metaboliten umgesetzt (Innis et al., 1991), die die Blut-Hirn-Schranke nicht zu übertreten vermögen. Die Clearance von [^{123}I]IBZM aus dem Blut erfolgt rasch; innerhalb von fünf Minuten sinkt die Blutaktivität auf weniger als 1% der injizierten Dosis (Kung et al., 1990). Nach zwei Stunden beträgt die ins Gehirn aufgenommene Menge etwa 4% der injizierten Dosis (Verhoeff et al., 1991a). Die Biodistribution bei der Ratte wurde ebenfalls von Kung und Mitarbeitern untersucht (Kung et al., 1988). Der Initialuptake ist in Lunge, Leber, Intestinum und Gehirn am höchsten; die Radioaktivität in der Lunge wird mit einer Halbwertszeit von 1.3 Stunden verhältnismäßig schnell ausgewaschen. Die steigenden Radioaktivitätszunahmen in Blase und Intestinum legen nahe, dass die Ausscheidung von [^{123}I]IBZM sowohl über die Niere als auch über das hepatobiliäre System erfolgt. Die Schilddrüsenaktivität nimmt zeitabhängig zu, was eine *in vivo* Dejodiniierung von [^{123}I]IBZM nahe legt. Im Gehirn wird die höchste spezifische Aufnahme in Nuc. caudatus, Putamen, Nuc.

accumbens und Tuberculum olfactorium gemessen (Verhoeff et al., 1991). Die spezifische Bindung im Striatum erreicht nach etwa 40 Minuten ein Maximum, das bis zu zwei Stunden stabil bleibt (Verhoeff et al., 1991b, Seibyl et al., 1992); danach wird ein Absinken der Radioaktivitätswerte beobachtet (Brücke et al., 1991). Die Reextraktion von [^{123}I]IBZM aus dem striatalen Gewebe der Ratte 30 Minuten nach Injektion und die nachfolgende Untersuchung des Extraktes mittels HPLC ergab die nämlichen Retentionszeiten, die bei der Untersuchung von [^{123}I]IBZM gemessen wurden; dies legt nahe, dass der Metabolismus von [^{123}I]IBZM im striatalen Zielgewebe minimal ist.

Die vorausgegangenen Studien mit dem TierPET haben gezeigt, dass die Identifikation des Striatums durch Radioaktivitätsakkumulationen in anderen paarigen Regionen des Kopfes, wie etwa den Harderschen Drüsen, konfundiert sein kann. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn neue Radioliganden evaluiert werden, deren Verteilungsmuster unbekannt sind. Schwierigkeiten entstehen überdies dann, wenn die Transporter- oder Rezeptorbindung nach Läsion oder unter pharmakologischer Blockade - mithin im Zustand beabsichtigter Minderanreicherung - quantifiziert werden soll. Außerdem sind üblicherweise als REFs verwendete Regionen wie das Zerebellum durch eine so geringe DAT- und D₂-Rezeptordichte gekennzeichnet, dass ihre exakte Eingrenzung problematisch ist.

Da das TierSPECT im Gegensatz zu dedizierten Kameras wie dem X-SPECT nicht über die Möglichkeit zur Koregistrierung von CT-Bildern verfügt (www.gammamedica.com), wurde eine Methode entwickelt, die die Lokalisierung der Zielregionen mittels quasi-anatomischer Landmarken erlaubt. Dabei erfolgt deren Darstellung durch die Untersuchung des Rattenkopfes mit den $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -markierten Tracern [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]3,3-Diphosphono-1,2-propandicarbonsäure ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD), [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Hexamethylpropylenaminnoxim ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO) oder [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin, die die Bildgebung des Knochenstoffwechsels, der Gehirnperfusion und der Weichteilgewebepfusion ermöglichen. Im Allgemeinen können mit dedizierten Kleintier-Scannern keine Simultanmessungen mit Radiotracern durchgeführt werden, die mit verschiedenen Radioisotopen markiert sind, da die Energiefenster für jedes Radioisotop gesondert adjustiert werden müssen. Dies hat seinen Grund darin, dass die einzelnen Isotope Gammastrahlen unterschiedlicher Energien emittieren; so liegen etwa die Photopeaks von $^{99\text{m}}\text{Tc}$ und ^{123}I bei 140 beziehungsweise 159 keV. Durch retrospektive 3D Überlagerung der [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-mit den Knochenstoffwechsel- und Perfusionsscans können im Anschluss

Striatum, Kortex und Zerebellum relativ zur Lage der Orbitae mit den Harderschen Drüsen und der Ausdehnung der Schädelhöhle identifiziert werden.

Diese Methode der landmarkenbasierten ROI- und REF-Definition wurde in einer ersten Machbarkeitsstudie für TierSPECT und TierPET evaluiert, wobei die quasi-anatomische Information für die Identifikation von Striatum und Neokortex im letzteren Falle aus TierSPECT-Bildern des Knochenstoffwechsels abgeleitet wurde. Dabei wurden für die DAT-Bindung von [^{123}I]FP-CIT und die D₂-Rezeptorbindung von [^{123}I]IBZM beziehungsweise [^{18}F]FMB nach der vereinfachten Referenzgewebe-Methode (Lammertsma & Hume, 1996) die striato- und kortikozerebellären Quotienten als Schätzwerte der BPs bestimmt.

2.1.3.2. Methode

2.1.3.2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 17 männliche Ratten (Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; Charles River, St. Aubin-les-Elbeuf, Frankreich). Die Experimente wurden von den Bezirksregierungen in Düsseldorf und Köln genehmigt und in Übereinstimmung mit den „Prinzipien der Labortierpflege“ (NIH Publikation No. 68-23, revidierte Fassung von 1985) und dem Deutschen Tierschutzgesetz in der Nuklearmedizinischen Klinik (Universitätsklinikum Düsseldorf) und im Institut für Medizin (Forschungszentrum Jülich GmbH) durchgeführt.

2.1.3.2.2. TierSPECT und TierPET

Das TierSPECT (Abb. 13) wurde in Zusammenarbeit zwischen dem Zentrallabor für Elektronik (Forschungszentrum Jülich GmbH) und der Nuklearmedizinischen Klinik (Universitätsklinikum Düsseldorf) entwickelt. Die technischen Charakteristika des Scanners wurden in mehreren Arbeiten beschrieben (Schramm et al., 2000, Wirrwar et al., 2005a). Der Detektor besteht er aus einer 3 mm dicken NaI(Tl)-Scheibe, die an einen PS-PMT (Hamamatsu R3292) gekoppelt ist und um das horizontal positionierte Versuchstier zu rotieren vermag. Das FOV hat einen Durchmesser von 82 mm. Ein niedrig-energetischer LEUHR-Parallellochkollimator (Septumlänge: 37 mm, Lochdurchmesser: 1 mm, Septumdicke: 0.2 mm) ist dem Detektor

aufgesetzt. Bei einem Rotationsradius von 30 mm betragen die tomographischen Auflösungen (FWHM) für ^{99m}Tc und ^{123}I 2.8 beziehungsweise 3.4 mm; die Sensitivitäten liegen bei 22 beziehungsweise 16 cps/MBq. Die Daten werden in einer 128 x 128 Matrix akquiriert, wobei sowohl Pixelbreite als auch Schichtdicke 0.664 mm betragen. Die Rekonstruktion erfolgt mit einem iterativen OSEM-Algorithmus (Scivis GmbH, Göttingen, BRD) in drei Iterationsreihen und vier Iterationsschritten pro Reihe; dabei wird keinerlei Filterung vorgenommen. Eine Schwächungskorrektur erfolgt unter Annahme eines homogenen Schwächungsmediums mit den linearen Schwächungskoeffizienten 0.11 cm^{-1} und 0.10 cm^{-1} für ^{99m}Tc beziehungsweise ^{123}I .

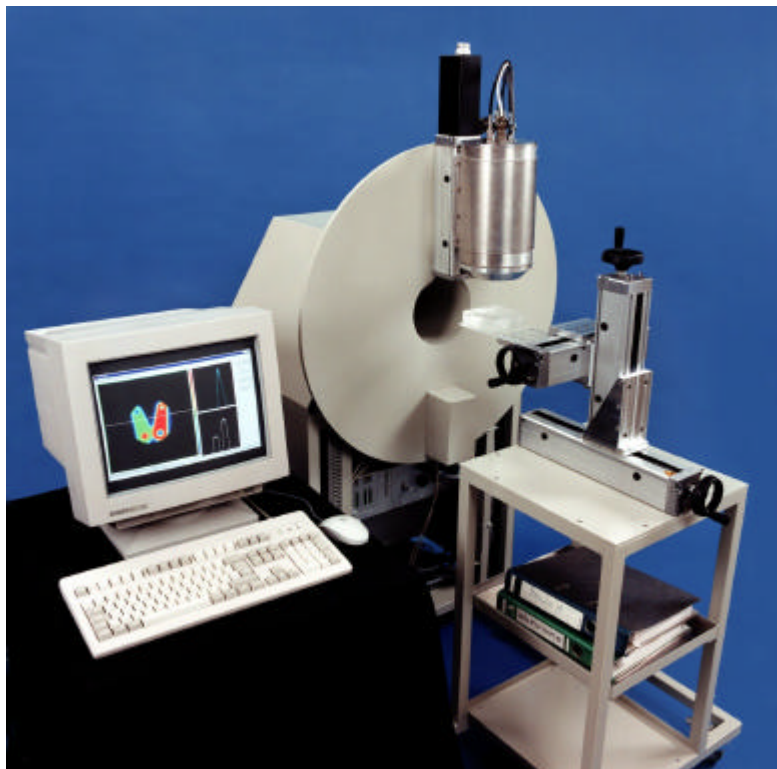


Abb. 13. TierSPECT. Die Kamera hat eine räumliche Auflösung von 2.8 mm und eine Sensitivität von 22 cps/MBq (für ^{99m}Tc bei einem Rotationsradius von 30 mm).

Das TierPET (Abb. 5) besteht aus zwei orthogonal angeordneten Detektorpaaren aus YAP(Ce)-Kristallen (20 x 20 Kristalle/Detektor), die um das horizontal positionierte Tier rotieren. Das FOV hat einen Durchmesser von 40 mm. Die Signalauslesung erfolgt mit einem PS-PMT (Hamamatsu R2487) pro Detektor. Die Kamera hat eine räumliche Auflösung von 2.1 mm und eine Sensitivität von 3240 cps/MBq bei einem Zentrum-Detektor-Abstand von 80 mm.

Die Rekonstruktion der Daten erfolgt unter Verwendung eines iterativen MLEM-Algorithmus' (Lipinski et al., 1997; Alpha Station 200, Digital Equipment Corp., Maynard, USA) in aufeinanderfolgenden Schichten von jeweils 2 mm Dicke. Pro Schicht werden 25 Iterationen durchlaufen. Der Faktor für die Schwächungskorrektur wurde unter Annahme eines homogenen, wassergefüllten Zylinders mit $\mu = 0.095 \text{ cm}^{-1}$ geschätzt.

2.1.3.2.3. Messungen

Den anästhesierten Tieren (Kurzzeitanästhesie mit Isofluran, Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, BRD; Ketaminhydrochlorid, Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen, BRD; Konzentration: 100 mg/ml, Dosis: 0.9 ml/kg; Xylazinhydrochlorid, Rompun®, Bayer, Leverkusen, BRD; Konzentration: 0.02 mg/ml, Dosis: 0.4 ml/kg) wurde [^{123}I]FP-CIT (Amersham Buchler, Braunschweig; 20 MBq, n = 6), [^{123}I]IBZM (Amersham Buchler, Braunschweig, BRD; 24 MBq, n = 5) oder [^{18}F]FMB (Institut für Nuklearchemie, Forschungszentrum Jülich GmbH; 70 MBq, n = 3) injiziert. Für die Untersuchungen mit [^{123}I]FP-CIT und [^{123}I]IBZM wurde eine DAT- beziehungsweise D₂-Rezeptorblockade mittels MP (zur Verfügung gestellt von Medice GmbH, Iserlohn, BRD; 10 mg/kg i.p., n = 3) oder HAL (Sigma Aldrich, Taufkirchen, BRD; 1 mg/kg i.p., n = 2) durchgeführt. Für die Darstellung des Knochenstoffwechsels, der Gehirnperfusion und der Weichteilgewebepерfusion wurde drei weiteren Ratten 60 MBq [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD (CIS Diagnostik, Berlin, BRD), 240 MBq [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO (Amersham Buchler, Braunschweig; BRD) oder 20 MBq [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin (Amersham Buchler, Braunschweig, BRD) injiziert.

Um die reproduzierbare Positionierung des Versuchstieres innerhalb des FOVs zu gewährleisten, wurden alle Ratten in der nämlichen Kopfhaltung (Institut für Medizin, Forschungszentrum Jülich GmbH) gemessen. Die Akkumulation der ^{123}I - und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -markierten Tracer wurde mit dem TierSPECT 10 ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin), 20 ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO), 45 ([^{123}I]IBZM), 90 ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD) oder 120 Minuten ([^{123}I]FP-CIT) nach Tracer-Applikation gemessen. Die Datenakquisition erfolgte in Winkelschritten von 6° (60 Projektionen, 45 - 90 s/Projektion). Die Akkumulation des ^{18}F -markierten D₂-Rezeptorliganden wurde mit dem TierPET gemessen. Die Messungen begannen unmittelbar nach Tracer-Applikation, wobei die Daten in sechs Zeitfenstern von jeweils sechsminütiger Dauer in Winkelschritten von 7.5° (30 s/Projektion) akquiriert wurden.

2.1.3.2.4. Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem MPI-Tool (Advanced Tomo Vision, Erftstadt, BRD). Dabei wurden [^{99m}Tc]DPD- mit [^{99m}Tc]Tetrosfosmin-, [^{99m}Tc]HMPAO-, [^{123}I]FP-CIT-, [^{123}I]IBZM- und [^{18}F]FMB-Scans fusioniert. Mit Hilfe der [^{99m}Tc]DPD-, [^{99m}Tc]Tetrosfosmin- und [^{99m}Tc]HMPAO-Scans erfolgte die Bildgebung der extrazerebralen Landmarken, vermittels derer die striatalen, kortikalen und zerebellären Zielregionen identifiziert werden konnten (Abb. 14). Es folgte die Definition eines Templates, das striatale, kortikale und zerebelläre ROIs umfasste; diese umschrieben kreisförmige (Striatum) oder ellipsoide (Neokortex, Zerebellum) Flächen mit einer Größe von 1.5, 1.8 beziehungsweise 7 mm² und wurden über den Aktivitätsmaxima der jeweiligen Strukturen definiert. Da in autoradiographischen Studien nicht nur für das Striatum sondern auch für kortikale Regionen eine Bindung von [^{123}I]FP-CIT (Günther et al., 1997) und [^{123}I]IBZM (Verhoeff et al., 1991a) nachgewiesen wurde, wurden für blockierte und nicht-blockierte DAT- beziehungsweise D₂-Rezeptorbindung neben striato- auch frontokortikozerebelläre Quotienten berechnet.

Da für die Validität des vereinfachten Referenzgewebe-Modells (Lammertsma & Hume, 1996) das Bindungsequilibrium unabdingbar ist, beschränkte sich die Auswertung der PET-Daten auf den Zeitraum zwischen der 24. und 36. Minute nach [^{18}F]FMB-Applikation, für den in Untersuchungen an Mäusen und Affen das Bindungsequilibrium nachgewiesen wurde (Suehiro et al., 1990, Moerlein et al., 1997b). Bei den TierSPECT-Untersuchungen wurde das Einhalten der Equilibriumsbedingung dadurch gewährleistet, dass die [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Messungen zwischen der 120. und 180. (Seibyl et al., 2000) beziehungsweise 45. und 105. Minute (Verhoeff et al., 1991b, Seibyl et al., 1999) nach Radioligandenapplikation durchgeführt wurden.

2.1.3.3. Ergebnisse

Abb. 14 zeigt die Identifikation quasi-anatomischer Landmarken mit der Methode der retrospektiven Bildfusion. Da weder [^{99m}Tc]DPD noch [^{99m}Tc]Tetrosfosmin die Blut-Hirn-Schranke durchdringen und den Knochenstoffwechsel beziehungsweise die Weichteilgewebepерfusion darstellen, erlaubt ihre Verteilung die Lokalisierung von Schädelhöhle, Augenhöhlen und Harderschen Drüsen (Abb. 14, erste Spalte). Folglich kann das

Striatum auf den [^{123}I]FP-CIT-, [^{123}I]IBZM- und [^{18}F]FMB-Bildern relativ zu Kranium, Orbitae und den extrazerebralen Anreicherungen von [^{123}I]FP-CIT, [^{123}I]IBZM und [^{18}F]FMB in den Harderschen Drüsen lokalisiert werden (Abb. 14, dritte, vierte und fünfte Spalte). Die Überlagerung von [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD und [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO-Scan erlaubt die Identifizierung des frontalen Kortex' und des Zerebellums relativ zum Kranium (Abb. 14, zweite Spalte) und ermöglicht so die Lokalisierung dieser Regionen auf den [^{123}I]FP-CIT-, [^{123}I]IBZM- und [^{18}F]FMB-Bildern anhand der rostralen und kaudalen [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO-Akkumulation (Abb. 14, dritte, vierte und fünfte Spalte).

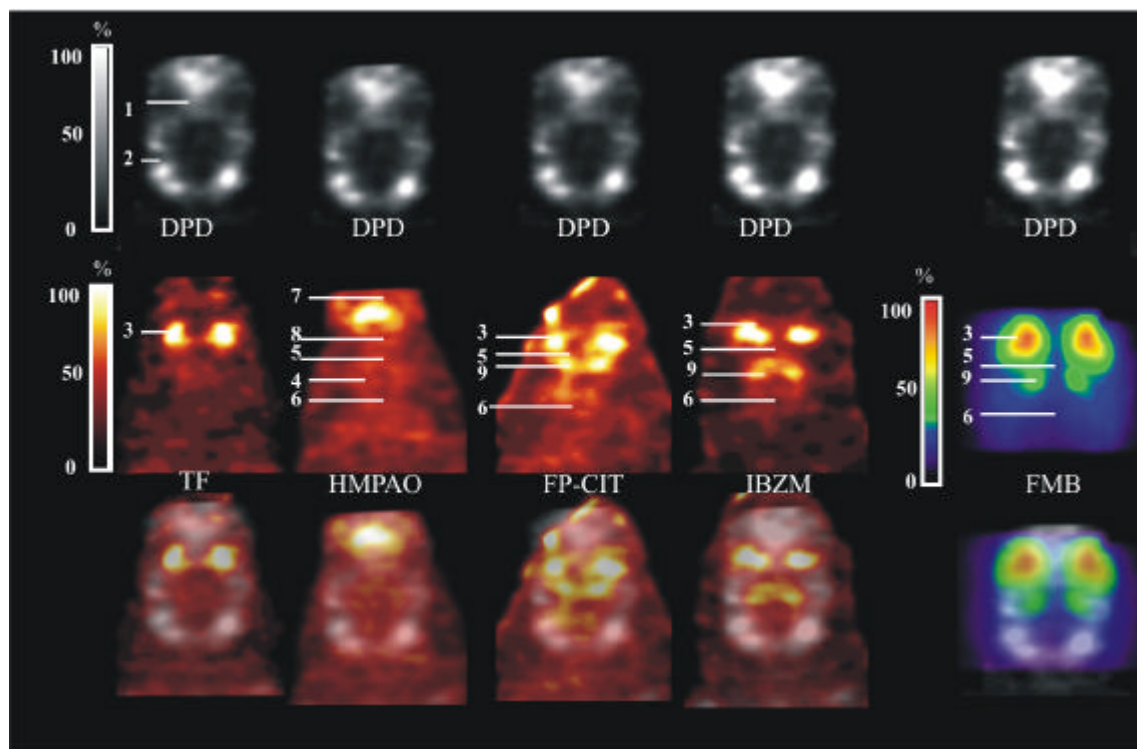


Abb. 14. Identifikation quasi-anatomischer Landmarken mittels retrospektiver Bildfusion. Knochenstoffwechsel, Weichteilgewebepерfusion und Gehirnperfusion der Ratte wurden mittels [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin und [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO visualisiert. Weiteren Tieren wurden DAT- ([^{123}I]FP-CIT) oder D₂-Rezeptorliganden ([^{123}I]IBZM, [^{18}F]FMB) appliziert. Die Messungen erfolgten mit TierSPECT ([^{123}I]FP-CIT, [^{123}I]IBZM) oder TierPET ([^{18}F]FMB). Striatum, Kortex und Zerebellum wurden mit Hilfe einer Reihe von Fusionsbildern identifiziert, die die Lokalisierung der Zielregionen relativ zu den Regionen spezifischer Anreicherung der Stoffwechsel- und Perfuisionsmarker erlauben. 1, Orbita, 2, Kranium, 3, Hardersche Drüsen, 4, Zerebrum, 5, frontaler Kortex, 6, Zerebellum, 7, Riechschleimhaut, 8, Bulbus olfactorius, 9, Striatum. Nikolaus et al., 2004b.

Abb. 15 zeigt charakteristische koronale [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Bilder nach Vorbehandlung mit MP beziehungsweise HAL sowie die Überlagerung der [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM- mit [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD-Scans. Die Reduktion der striatalen DAT- und D₂-

Rezeptorbindung im Vergleich zu den unbehandelten Tieren (Abb. 14, dritte und vierte Spalte) ist deutlich sichtbar. Da das Striatum nicht mehr als solches erkennbar ist, erleichtert das Einbetten der [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Bilder in den quasi-anatomischen Zusammenhang die Identifikation der Zielregionen.

Die Auswertung der [^{18}F]FMP-PET-Daten ergab striato- und frontokortikozerebelläre Quotienten von 2.8 ± 1.1 (MW $\pm$ SD) beziehungsweise 2.1 ± 0.7 . Die striatozerebellären Quotienten von [^{123}I]FP-CIT betrugen 2.2 ± 0.6 in der nicht-blockierten und 1.3 ± 0.2 in der blockierten Bedingung. Die frontokortikozerebellären Quotienten lagen bei 1.5 ± 0.6 beziehungsweise 0.9 ± 0.3 . Für [^{123}I]IBZM ergaben sich striatozerebelläre Quotienten von 2 ± 0.2 in der nicht-blockierten und 1.5 ± 0.1 in der blockierten Bedingung. Die frontokortikozerebellären Quotienten lagen bei 1.6 ± 0.3 beziehungsweise 1.2 ± 0.2 .

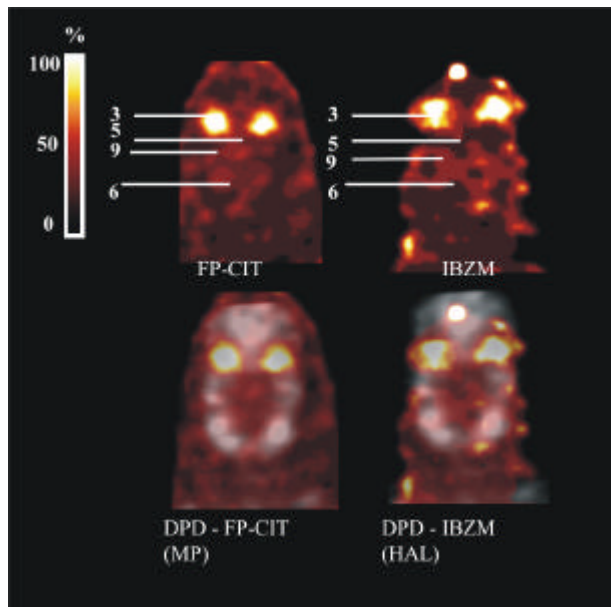


Abb. 15. Charakteristische koronale [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Bilder nach DAT- und D_2 -Rezeptorblockade mit MP beziehungsweise HAL (obere Reihe). Die untere Reihe zeigt die Überlagerung der [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Bilder nach DAT- und D_2 -Rezeptorblockade mit [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD-Scans. 3, Hypophysenhinterlappen, 5, frontaler Kortex, 6, Zerebellum, 9, Striatum. Nikolaus et al., 2004b.

2.1.3.4. Diskussion

Der TierSPECT-Detektor besteht aus einer 3 mm dicken NaI(Tl)-Scheibe, die an einen PS-PMT gekoppelt ist. Wahlweise kann dem Detektor ein LEHR- oder ein LEUHR-Parallellochkollimator aufgesetzt werden. 3D-Bildgebung erfolgt durch Rotation des Detektors um das Objekt. Die Auflösung liegt mit 2.8 mm für ^{99m}Tc und 3.4 mm für ^{123}I im Bereich des YAP-(S)PETs (Del Guerra et al., 2000) und der SPECT-Kamera der Universität Athen (Loudos et al., 2003, s. Tab. II im Anhang), die ebenfalls auf Szintillationskristallen und Parallellochkollimation basieren. Die Sensitivität ist mit 22 cps/MBq für ^{99m}Tc und 16 cps/MBq für ^{123}I aufgrund der einarmigen Konfiguration gegenüber dem YAP-(S)PET um eine Größenordnung erniedrigt (Del Guerra et al., 2000); für die SPECT-Kamera der Universität Athen wurde die Sensitivität nicht mitgeteilt (Loudos et al., 2003). Verglichen mit den dedizierten (s. Tab. II im Anhang) wie aufgerüsteten (s. Tab. III im Anhang) Pinhole-Tomographen, ist die Ortsauflösung auch bei Verwendung eines LEUHR-Kollimators deutlich reduziert. Auch die Sensitivität ist aufgrund des verwendeten dünnen Kristalls, der Parallellochkollimation und der einarmigen Konfiguration um eine Größenordnung niedriger.

Die hier dargestellte Machbarkeitsstudie zeigt, dass SPECT- und PET-Bilder der Transporter- oder Rezeptorbindung mit Knochenstoffwechsel- und Perfusionsscans überlagert werden können. [^{99m}Tc]DPD, [^{99m}Tc]Tetrofosmin und [^{99m}Tc]HMPAO liefern dabei quasi-anatomische Informationen, die die Identifikation von Striatum, Kortex und Zerebellum relativ zur Schädelhöhle und zur Lage der Orbitae mit den Harderschen Drüsen erleichtern. Das Einordnen der [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Bilder in einen quasi-anatomischen Zusammenhang ist insbesondere dann von Beutung, wenn die intrakraniellen Radioaktivitätskonzentrationen durch pharmakologische Blockade der DAT- und D₂-Rezeptorbindungsstellen mit MP beziehungsweise HAL reduziert werden. So konnte gezeigt werden, dass die DAT- und D₂-Rezeptorbindung auch nach Vorbehandlung mit MP beziehungsweise HAL mit dem TierSPECT quantifiziert zu werden vermag.

Eine Limitierung der retrospektiven Fusionsmethode besteht darin, dass die 3D Überlagerung in erster Näherung mit der in das MPI-Tool implementierten Fusionsfunktion erfolgte, worauf die Bilder unter manueller Verschiebung in x-, y- und z-Achse bestmöglich zur Deckung gebracht wurden. Beides stellt eine potentielle Fehlerquelle dar, zumal keine

zusätzlichen radioaktiven Markierungen auf die Rattenköpfe aufgebracht wurden. Überdies stammten die [^{99m}Tc]DPD-, [^{99m}Tc]Tetrofosmin- und [^{99m}Tc]HMPAO-Scans von anderen Tieren als die [^{123}I]FP-CIT-, [^{123}I]IBZM- und [^{18}F]FMB-Scans. Idealerweise sollte die Bildgebung des Knochenstoffwechsels, der Perfusion und der Transporter- beziehungsweise Rezeptorbindung an denselben Tieren erfolgen. Da hierfür zum Zeitpunkt dieser ersten Machbarkeitsstudie keine Tierversuchsgenehmigung vorlag, wurden Ratten des gleichen Alters und Gewichtes verwendet, um die Varianz zwischen den Versuchstieren so gering wie möglich zu halten. Überdies wurden alle Ratten in der nämlichen Kopfhaltung (Institut für Medizin, Forschungszentrum Jülich GmbH) gemessen, um die reproduzierbare Positionierung des Versuchstieres innerhalb des FOVs zu gewährleisten.

Ungeachtet der durchschnittlichen Performance der TierSPECT-Kamera liegt der in unserer Studie für [^{123}I]FP-CIT ermittelte striatozerebelläre Quotient von 2.2 in der gleichen Größenordnung wie der zuvor von Booij und Mitarbeitern mit dem Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam für nicht-lädierte Ratten bestimmte Wert von 3.1 (Booij et al., 2002). Eine noch bessere Übereinstimmung wurde für [^{18}F]FMB erreicht: wir erhielten einen striatozerebellären Quotienten von 2.8, während unsere in Kapitel 2.2.2. dargestellte Untersuchung mit der Methode der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse ein $B_{\max}$ von 16 fmol/mg und einen K_D von 6.2 nmol/l ergab; dies entspricht einem BP ($= B_{\max}/K_D$) von 2.6.

In ihrer Untersuchung zur striatalen [^{123}I]IBZM-Bindung bestimmten Scherfler und Mitarbeiter V_3'' als Äquivalent des BPs (Scherfler et al., 2005). V_3'' ist der Quotient der Verteilungsvolumina des spezifischen und nicht-spezifischen Kompartimentes (V_3/V_2) im Zustand des Equilibriums und ergibt sich aus $(V_T/V_2)-1$, wobei V_T das Gesamtgewebeverteilungsvolumen bezeichnet und gleich der Summe aus V_2 und V_3 ist. Sind die Gleichgewichtskonzentrationen des freien und des nicht-spezifisch gebundenen Liganden in allen Gehirnregionen gleich, kann V_2 aus einer REF abgeleitet werden, und V_3'' ergibt sich aus $V_T(\text{ROI})/V_T(\text{REF})-1$ (Laruelle et al., 1994). Damit entspricht der von Scherfler und Mitarbeitern für nicht-lädierte Ratten angegebene durchschnittliche V_3'' -Wert von 12.2 einem striatozerebellären Quotienten von 11.2 (Scherfler et al., 2005). Diese BP-Abschätzung ist um eine Größenordnung höher als der von uns ermittelte striatozerebelläre Quotient von 2., der hinwiederum in der gleichen Größenordnung wie der von Verhoeff und Mitarbeitern *ex vivo* bestimmte striatozerebelläre Quotient von ≈ 5 (Verhoeff et al., 1991a) liegt und überdies mit dem

von Saji und Mitarbeitern *in vivo* an nicht-humanen Primaten bestimmten V_3'' -Wert von 1.1 identisch ist, der einem striatozerebellären Quotienten von ≈ 2 entspricht (Saji et al., 2003).

Eine Ursache für die Unterschiede in den für [^{123}I]IBZM berichteten striatozerebellären Quotienten sind möglicherweise die verschiedenen Messzeitpunkte: so wurden unsere SPECT-Daten zwischen der 45. und 105. Minute und die Daten von Saji und Mitarbeitern zwischen der 60. und 81. Minute nach [^{123}I]IBZM-Applikation akquiriert, während die Messungen von Scherfler und Mitarbeitern erst zwischen der 81. und 145. Minute stattfanden. Auch der Quotient von ≈ 5 war das Ergebnis zweier *ex vivo* Messungen, die 60 beziehungsweise 90 Minuten nach [^{123}I]IBZM-Applikation durchgeführt wurden; eine weitere Messung 120 Minuten nach [^{123}I]IBZM-Applikation ergab einen striatozerebellären Quotienten von 6.9 (Verhoeff et al., 1991a), der jedoch immer noch um einen Faktor 1.4 unter dem von Scherfler und Mitarbeitern zwischen der 81. und 145. Minute ermittelten BP liegt (Scherfler et al., 2005).

Weitere Unterschiede zwischen unserer Studie und der von Scherfler und Mitarbeitern durchgeführten Untersuchung bestehen in der Methode der ROI-Definition; während wir quasi-anatomische Landmarken verwendeten und kreisförmige ROIs um die striatalen Aktivitätsmaxima legten, führten Scherfler und Mitarbeiter SPECT-MRT-Koregistrierungen mit einem klinischen MR-Tomographen durch und definierten den gesamten striatalen Umriss als ROI. Dabei nutzten allerdings auch sie die Position von Speichel- und Harderschen Drüsen auf den koregistrierten Bildern als Maß für die Übereinstimmung zwischen der striatalen Zielregion und den auf den MRT-Bildern definierten ROIs (Scherfler et al., 2002). Da sie jedoch den gesamten striatalen Umriss als ROI definierten, ist im Vergleich zu unserer Methode eher eine Überschätzung der mittleren striatalen Radioaktivitätskonzentrationen pro Voxel und damit auch der striatozerebellären Quotienten beziehungsweise V_3'' -Werte zu erwarten. Dies wird dadurch bestätigt, dass auch der von Scherfler und Mitarbeitern mit dem Tropananalogon [^{123}I]β-CIT bestimmte V_3'' -Wert von 4 - entsprechend einem striatozerebellären Quotienten von 5 - unser mit [^{123}I]FP-CIT ermitteltes BP von 2.2 um einen Faktor 2 überstieg (Scherfler et al., 2002).

Insgesamt zeigt diese Studie, dass die Transporter- und Rezeptorbindung wie auch -blockade mit dem TierSPECT quantifiziert zu werden vermag. Dabei kann die ROI-Definition durch die Verwendung quasi-anatomischer Landmarken erleichtert werden, die die Identifikation intrazerebraler Zielregionen relativ zu extrazerebralen ossären oder glandulären Strukturen erlauben. Sowohl mit Kleintier-SPECT als auch -PET können quasi-anatomische Bilddaten

durch Untersuchungen mit Knochenstoffwechsel- oder Perfusionmarkern akquiriert werden, die mit ^{99m}Tc beziehungsweise positronenemittierenden Radionukliden wie ^{18}F , ^{11}C oder ^{13}N markiert sind. Dabei zeigte unsere Untersuchung, dass eine grobe anatomische Übersicht sogar durch Kombination unterschiedlicher bildgebender Modalitäten wie PET und SPECT erreicht zu werden vermag.

Ein Vorteil unserer retrospektiven Fusionsmethode ist dabei, dass sie eine nuklearmedizinische Alternative zur morphologischen Koregistrierung mit dedizierten MRT- oder CT-Systemen darstellt. Dies ist umso wichtiger, als mit dem X-SPECT bislang erst ein speziell für Kleintiere entwickeltes System kommerziell erhältlich ist, das die unmittelbare Koregistrierung von SPECT- und CT-Bildern erlaubt (www.gammamedica.com). Eine Weiterentwicklung unserer retrospektiven Fusionsmethode ist die Zwei-Isotopen-Methode, bei der die Datenakquisition simultan in verschiedenen Energiefenstern erfolgt, so dass dem Tier die mit zwei unterschiedlichen Isotopen - etwa ^{123}I und ^{99m}Tc - markierten Radiotracer unmittelbar nacheinander injiziert werden können. Inhaltliche Zwei-Isotopen-Studien wurden bislang lediglich mit dem A-SPECT durchgeführt: Gegenstand der ersten Untersuchung war dabei die Bildgebung Natriumjodidsymporter(NIS)-exprimierender muriner Lungentumore mittels $\text{Na}[^{125}\text{I}]$ und ^{99m}Tc -markierten Makroalbuminen, die die Darstellung der Lungenperfusion erlauben (Marsee et al., 2004). Überdies wurde der ^{125}I -markierte vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor $[^{125}\text{I}]\text{VEGF}$ gemeinsam mit dem Knochenstoffwechseltracer $[^{99m}\text{Tc}]\text{Methylendiphosphonat}$ ($[^{99m}\text{Tc}]\text{MDP}$) zur Darstellung ossärer Regenerationsprozesse bei der Maus eingesetzt (Mandl et al., 2004). Des weiteren wurde eine Machbarkeitsstudie mit einer aufgerüsteten klinischen SPECT-Kamera (Prism 2000XP-HiSPECT) durchgeführt, die die Darstellung der D_2 -Rezeptorbindung und des Knochenstoffwechsels mittels $[^{123}\text{I}]\text{IBZM}$ beziehungsweise $[^{99m}\text{Tc}]\text{MDP}$ bei der Ratte zum Inhalt hatte (Wirrwar et al., 2005b). Es versteht sich, dass die Zwei-Isotopen-Methode der retrospektiven Fusionsmethode überlegen ist, da sie die gleichzeitige Akquisition von Bilddaten unterschiedlicher funktioneller Modalitäten erlaubt. Da mit dem TierSPECT jedoch keine gleichzeitigen Messungen in verschiedenen Energiefenstern durchgeführt werden können, stellt die retrospektive Fusionsmethode eine wertvolle Alternative dar, die insbesondere für die Lokalisation der Zielregionen nach Läsion oder pharmakologischer Blockade von Bedeutung ist.

2.2. Untersuchungen zu den Regulationsmechanismen der dopaminergen Synapse

2.2.1. Longitudinaluntersuchung der striatalen D₂-Rezeptordichte im 6-Hydroxydopaminmodell der Ratte⁴

2.2.1.1. Einleitung

Das 6-OHDA-Modell der Ratte. Im Jahre 1959 beschrieben Senoh und Mitarbeiter den Katecholaminmetaboliten 2,4,5-Trihydroxyphenylamin (6-OHDA) im Rahmen ihrer Untersuchungen zur enzymatischen Umsetzung von DA im homogenisierten Rattengewebe (Senoh et al., 1959). Zehn Jahre später zeigte Ungerstedt, dass die zentrale 6-OHDA-Applikation eine Degeneration katecholaminerger Neurone herbeiführt: so resultiert die Injektion des Neurotoxins in den Bereich des Nuc. interpeduncularis in einer Zerstörung der NAergen Neurone dieser Region sowie der DAergen Zellkörper in der Substantia nigra. Auch direkte Applikation in die Zona compacta der letzteren verursacht eine chemische Läsion, die sich durch die anterograde Degeneration des nigrostriatalen Traktes ausweist (Ungerstedt, 1968).

6-OHDA gewinnt über einen aktiven Aufnahmemechanismus Eingang in die Zelle und sammelt sich insbesondere im hochaffinen Transportsystem und in den Terminalen katecholaminerger Neurone an (Thoenen & Tranzer, 1968). Hier wird es innerhalb kurzer Zeit unter Sauerstoffaufnahme zu Wasserstoffperoxid und einem Quinon oxidiert, wobei die Entstehung des ersteren eine Inhibierung des Wiederaufnahmemechanismus' biogener Amine zur Folge hat (Heikkila & Cohen, 1971). Die 6-OHDA-Quinone werden durch Ascorbat, das seinerseits die Rate der Sauerstoffaufnahme und damit der Wasserstoffperoxidproduktion erhöht (Heikkila & Cohen, 1972), in einem Elektronentransferprozess zu 6-Hydroxyindol-p-Quinonen reduziert und gehen kovalente Bindungen mit den nukleophilen Gruppen von Makromolekülen, so etwa mit der OH-, der SH- oder der NH₂-Gruppe ein (Senoh & Witkop, 1959, Saner & Thoenen, 1971). Diese Bindungen verursachen die Denaturierung der für die Integrität des Neurons wichtigen Moleküle und fügen den Nervenfasern hiermit irreversiblen Schaden zu (Thoenen et al., 1970, Saner & Thoenen, 1971). Die Zerstörung der Nervenzelle setzt ein, sobald

⁴ Durchführung des Experimentes: Dezember 1999 – März 2000; Erstpublikation: Dezember 2002 (online)

ein bestimmter Gehalt an 6-OHDA und seinen Metaboliten erreicht ist (Thoenen & Tranzer, 1968). Der exakte Ansatzpunkt der Primärläsion ist unbekannt; Tranzer wies auf die Möglichkeit hin, daß die Zellmembran den Ort der initialen Schädigung darstellen könnte, da Aufnahmekapazität, Leitungseigenschaften und die Neurotransmission bereits frühzeitig nach Neurotoxinapplikation beeinträchtigt seien (Tranzer, 1971). Auch das endoplasmatische Reticulum und die Mitochondrien kommen als Ort der Primärläsion in Betracht; so konnte gezeigt werden, dass das endoplasmatische Reticulum 5-Hydroxydopamin (2,4,5-Trihydroxyphenylethylamin, 5-OHDA), einen weiteren, den Katecholaminen strukturanalogen, falschen Neurotransmitter zu akkumulieren vermag (Tranzer & Thoenen, 1967), während für die Mitochondrien die Tatsache spricht, dass sie die Redoxenzyme der Atmungskette enthalten und 6-OHDA seinerseits ein stark reduzierendes Agens darstellt (Wagner, 1971, Wagner & Trendelenburg, 1971).

Betroffen von der durch 6-OHDA induzierten progressiven Degeneration der Neurone sind als erstes die zellulären Enzyme und energieproduzierenden Zytochrome sowie verwandte Elemente der Atmungskette (Thoenen & Tranzer, 1968, Bloom et al., 1969, Bartholini et al., 1970, Wagner, 1971, Wagner & Trendelenburg, 1971). Einen Tag nach 6-OHDA-Behandlung ist die Nissl-Substanz über das gesamte Zytoplasma verteilt und der Zellkern zu einer Seite der Zelle hin verschoben. Die Neurotubuli sind angeschwollen und zerrissen, der axoplasmatische Fluss ist unterbrochen und zelluläre Granula haben sich in großer Anzahl in den Perikarya der Nervenzellen angesammelt (Cheah et al., 1971). Zu diesem Zeitpunkt verlieren die Terminale ihre Fähigkeit, Aktionspotentiale zu erzeugen und weiterzuleiten, weisen jedoch noch einen intakten Monoaminwiederaufnahmemechanismus auf (Häusler, 1971). Die dysfunktionalen DA-Neurone sind zwar imstande, DA zu synthetisieren, doch wird dieses nicht mehr in ausreichenden Mengen freigesetzt. Vierundzwanzig Stunden nach der Verabreichung von 6-OHDA ist der intrazelluläre DA-Gehalt dramatisch verringert; die katecholaminergen Neurone beginnen zu verschwinden. Infolge der internen Zerstörungsprozesse werden Katecholamine in den synaptischen Spalt abgegeben und rufen am postsynaptischen Rezeptor sympathomimetische Effekte wie Bluthochdruck und Tachykardie hervor (Stone et al., 1964, Varagic et al., 1970, De Champlain & Nadeau, 1971). Sind die Nervenendigungen vollständig zerstört, kommt es zu einer ausgeprägten Reduktion von Katecholaminkonzentration, Monoaminwiederaufnahme und TH-Aktivität (Iversen & Uretsky, 1970). Diese Veränderungen erreichen ihren höchsten Grad am

dritten Tag nach Neurotoxinapplikation.

Die 6-OHDA-Läsion zerstört selten die gesamte DAerge Innervation des nigrostriatalen Systems. Je nach Ort der Verabreichung und Dosis des Neurotoxins bleibt eine unterschiedliche Anzahl DAerger Neurone von den negativen Auswirkungen der 6-OHDA-Injektionen unberührt. In diesen Neuronen setzen kompensatorische Mechanismen ein, die eine Steigerung der DAergen Aktivität, mithin der DA-Synthese und der DA-Freisetzung, umfassen; gleicherweise wird die DA-Wiederaufnahme vermindert, so daß der extrazelluläre DA-Gehalt unerachtet des beträchtlichen Verlustes mesostriataler DAerger Neurone weitgehend unverändert bleibt (Agid et al., 1990). Diese kompensatorischen Mechanismen sind jedoch nicht länger hinreichend, wenn ein bestimmter Grad DAerger Denervation erreicht ist. So gilt für 6-OHDA-lädierte Ratten (Steiner et al., 1988, Schwarting et al., 1991, Morgan et al., 1993, Fornaguera et al., 1994) ebenso wie für Patienten mit Parkinsonismus (Bernheimer et al., 1973), dass funktionale Defizite in Erscheinung treten, sobald das Ausmaß der DA-Depletion 80% überschreitet.

6-OHDA-induzierte Verhaltensänderungen. Im intakten Gehirn besteht der Nettoeffekt von DA darin, über den nigrostriatopallidalen Schaltkreis die positive Rückkopplung vom Thalamus zum Neokortex zu verstärken (Abb 1). In der 6-OHDA-lädierten Ratte ist die nigrostriatale DAerge Aktivität auf der lädierten im Vergleich zur intakten kontralateralen Seite reduziert. Ebenso kann eine Verringerung des DAergen Aktivität in den Projektionen zum Globus pallidus angenommen werden, was in einer verstärkten Inhibierung des Thalamus und damit in einer verringerten Erregung der kortikostriatalen Faserverbindungen resultiert. Aufgrund des asymmetrischen DAergen Inputs in das Neostriatum zeigen die Tiere Verhaltensasymmetrien, die erstmalig von Ungerstedt beschrieben wurden (Ungerstedt et al., 1968) und in ipsiversivem - zur Seite der Läsion gerichtetem - Drehverhalten („Turning“) bestehen. Außerdem zeigt die Körperhaltung des 6-OHDA-behandelten Tieres als solche eine starke Asymmetrie: die Pfoten ipsilateral zur lädierten Substantia nigra werden nah am Körper gehalten, während die kontralateralen ausgestreckt werden (Ungerstedt, 1971). Ferner bewegt sich die ipsilaterale Vorderpfote während der Drehung nach vorne, während die kontralaterale abgespreizt und mitgezogen wird; da sich die kontralaterale Hinterpfote dabei nicht mitbewegt, dreht sich die Ratte *de facto* um diese (Marshall et al., 1974). Schallert und Mitarbeiter beobachteten darüberhinaus, dass sich stark lädierte Tiere unter Verlagerung ihres Gewichtes auf die ipsilaterale Vorderpfote fortbewegen. Dabei versucht das Tier, das Körpergewicht auch mit

der kontralateralen Pfote zu tragen und führt kompensatorische Aufholschritte aus; das Ergebnis ist eine Drehung des Tieres um die eigene Achse (Schallert et al., 1992). Ebenso ändert sich das peritaktische Verhalten der Ratten nach unilateraler 6-OHDA-Injektion; nach Applikation des Neurotoxins in die Substantia nigra explorieren die Tiere ihre Umgebung vorzugsweise mit der Körperseite ipsilateral zur Läsion (Steiner et al., 1988, Fornaguera et al., 1994). Die asymmetrische Peritaxis der Tiere steht dabei in keinerlei Zusammenhang mit dem nach 6-OHDA-Läsion auftretenden Drehdefizit, da zum einen Peritaxis mit der ipsilateralen Körperseite sehr wohl ohne gleichzeitige Drehasymmetrie in Erscheinung treten kann und sich zum anderen das ipsilateral zur Läsion scannende Tier *de facto* kontralateral zu derselben an Wand und Ecken des Testfeldes entlang bewegt (Schwartz et al., 1991).

Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen der Verhaltensasymmetrie der Tiere und dem Ausmaß der 6-OHDA-Läsion. Die für das Auftreten von Drehasymmetrien kritische DA-Depletion liegt bei 70 bis 80% (Steiner et al., 1988, Schwartz et al., 1991, Morgan et al., 1993, Fornaguera et al., 1994). Die Drehasymmetrie ist nicht nur mit der Größe der nigralen Läsion und der resultierenden Einbuße an neostriatalem DA, sondern auch mit dem DA-Metabolismus in den verbliebenen katecholaminergen Neuronen assoziiert: so gehen stärkere Läsionen mit höheren neostriatalen DOPAC/DA- und HVA/DA-Quotienten - mithin einer Steigerung des DA-Metabolismus' - einher (Schwartz et al., 1991). Ebenso konnte gezeigt werden, dass eine Abhängigkeit zwischen dem Grad der Zerstörung nigrostriataler Neurone und der Erholung von 6-OHDA-induzierter Verhaltensasymmetrie besteht (Schwartz et al., 1991, Morgan et al., 1993, Fornaguera et al., 1994); so wurden bei stark lädierten Tieren (DA-Restgehalt < 3%) ab dem ersten Tag nach Applikation des Neurotoxins ausgeprägte Drehasymmetrien beobachtet, die sich während der folgenden Wochen nicht verminderten, während Tiere mit weniger schweren Läsionen zwar auch anfängliche Verhaltensasymmetrien aufwiesen, sich jedoch von diesen innerhalb der darauf folgenden Woche erholten. Ein DA-Restgehalt zwischen 5 und 10% ist für das Auftreten einer Erholung von 6-OHDA-induzierten Verhaltensdefiziten kritisch; so konnte gezeigt werden, daß das Neuropeptid Substanz P nur in den Tieren eine Erholung des Drehverhaltens faszilitiert, deren ipsilateraler DA-Restgehalt 5% überschreitet (Mattioli et al., 1992, Nikolaus et al., 1997, 1999).

D₂-Rezeptorsupersensitivität. Die Mehrheit der nigrostriatalen Läsionsstudien zeigt eine kompensatorische Steigerung der D₂-Rezeptorbindung im denervierten Neostriatum (Creese et

al., 1977, Staunton et al., 1981, Neve et al., 1982, 1984, Ungerstedt et al., 1991). Dabei wird die Annahme zugrunde gelegt, dass dies auf eine Zunahme der D₂-Rezeptordichte und nicht auf Veränderungen in der Affinität zurückzuführen ist (Creese et al., 1977). Eine solche Steigerung der D₂-Rezeptorbindung wurde von Ferré und Fuxe auch im kontralateralen Neostriatum gefunden (Ferré & Fuxe, 1992), während sowohl Bevan als auch Guerin und Mitarbeiter eine Reduktion der D₂-Rezeptorbindung im kontralateralen Neostriatum berichteten (Bevan, 1983, Guerin et al., 1985).

Das Ausmaß der ipsilateralen D₂-Rezeptorsensitivität variiert beträchtlich zwischen den Studien; ein Grund hierfür sind Unterschiede im Ausmaß der DAergen Depletion (s. Übersichtsarbeit von Schwarting & Huston, 1996a). In den meisten Fällen wurde eine Zunahme der D₂-Rezeptorbindung um weniger als 50% gefunden. Negative Befunde ergaben sich, wenn die DAerge Depletion 80% unterschritt (Leysen et al., 1979, Theodorou et al., 1981, Filloux et al., 1987, 1999, Thomas et al., 1992). Untersuchungen des Zeitverlaufs zeigten dabei, dass sich die D₂-Rezeptorsensitivität innerhalb der ersten Woche nach 6-OHDA-Applikation entwickelt (Ungerstedt et al., 1991, Neve et al., 1982, 1984, Guerin et al., 1985, Pan et al., 1985, Chalon et al., 1999), jedoch sind die Befunde hinsichtlich des genauen Zeitpunktes nicht konsistent: so wurde in einigen Untersuchungen an den ersten Tagen nach Neurotoxin-Applikation kein Effekt (Creese & Snyder, 1979, Staunton et al., 1981, Marshall et al., 1989, Angulo et al., 1991, Narang & Wamsley, 1995) oder eine Reduktion der D₂-Rezeptorbindung (Mishra et al., 1980, Feuerstein et al., 1981a) gefunden. Das Maximum der D₂-Rezeptorsensitivität wird nach der zweiten postläsionalen Woche erreicht (Ungerstedt et al., 1991, Staunton et al., 1981, Neve et al., 1982, 1984). Langzeitstudien zeigten zudem, dass sie für sechs bis 18 Monate nach der Läsion persistiert (Thal et al., 1979, Feuerstein et al., 1981b, Bevan, 1983, Marshall et al., 1989, Savasta et al., 1992).

Bis *dato* wurden vier *in vivo* D₂-Rezeptorbindungsstudien an 6-OHDA-lädierten Ratten durchgeführt; dabei wurde die erste Untersuchung mit einem klinischen PET-Scanner (Siemens ECAT-953B) vorgenommen und zeigte drei Wochen nach der Läsion eine im Vergleich mit nicht-lädierten Kontrolltieren um 23% erhöhte [¹¹C]Racloprid-Bindung im ipsilateralen Striatum (Hume et al., 1995). Gegenüber dem kontralateralen Striatum war die ipsilaterale D₂-Rezeptorbindung um 16% erhöht. Einige Jahre später wurde die D₂-Rezeptorbindung mit einem dedizierten Kleintiertomographen (PCR-I) zwischen der ersten und dritten Woche nach

intranigraler 6-OHDA-Applikation durchgeführt (Nguyen et al., 2000); auch in dieser Studie wurde eine 19 bis 25%ige Zunahme der [^{11}C]Racloprid-Bindung im ipsilateralen Striatum beobachtet. Ähnliche Resultate wurden sowohl von Rubins (MicroPET) als auch Inaji und Mitarbeitern (Hamamatsu SHR-7000) erbracht (Rubins et al., 1999, Inaji et al., 2005). Eine Bestätigung ergab sich außerdem durch fMRT-Untersuchungen nach pharmakologischer Challenge mit APO und AMPH, die beide eine Zunahme des striatalen Blutvolumens auf der lädierten Seite hervorriefen (Nguyen et al., 2000). Diese Befunde sind mit der Annahme vereinbar, dass eine hochgradige 6-OHDA-Läsion des nigrostriatalen Systems zu einer Reduktion der striatalen DA-Konzentration führt, die ihrerseits eine kompensatorische Hochregulation der striatalen D₂-Rezeptoren induziert. Gleiches gilt für kürzlich publizierte Befunde von Inaji und Mitarbeitern, die 13 bis 15 Tage nach der Läsion in Abhängigkeit von der applizierten Neurotoxindosis eine 12 bis 41%ige Zunahme [^{11}C]Racloprid-Bindung im ipsilateralen Striatum beobachteten (Inaji et al., 2005).

In keiner *in vivo* Studie wurde eine kontralaterale Veränderung der D₂-Rezeptorbindung beobachtet. Dabei muss jedoch in Betracht gezogen werden, dass lediglich in der von Hume und Mitarbeitern durchgeführten Untersuchung die kontralaterale striatale D₂-Rezeptorbindung mit der striatalen D₂-Rezeptorbindung in nicht-lädierten Kontrollen verglichen wurde (Hume et al., 1995). Überdies wurde bislang noch keine Longitudinaluntersuchung der ipsi- und kontralateralen D₂-Rezeptorbindung an demselben Tier durchgeführt. Dies gilt ebenfalls für den Vergleich der D₂-Rezeptorbindung vor und nach 6-OHDA-Läsion.

Die unter 2.1.2. dargestellte Studie hatte ergeben, dass das TierPET für die Durchführung von Rezeptorbindungsstudien geeignet ist und dass B_{max} und K_D *in vivo* analog zur Auswertung von *in vitro* Bindungsdaten mittels linearer oder nicht-linearer Regressionsanalyse bestimmt werden können. Das Ziel dieser Studie war die Untersuchung der Veränderungen in der ipsi- und kontralateralen striatalen D₂-Rezeptordichte nach unilateraler DA-Depletion durch wiederholte Bestimmung von B_{max} mit der Methode der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse am selben Tier (Nikolaus et al., 2003b). Dabei wurde die ipsi- und kontralaterale [^{18}F]FMB-Bindung an den D₂-Rezeptor zunächst bei der normalen, unbehandelten Ratte quantifiziert. Weitere Bestimmungen der D₂-Rezeptorbindung folgten an Tag 2 und Tag 14 nach der Läsion.

2.2.1.2. Methode

2.2.1.2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 14 männliche Sprague-Dawley- Ratten (Charles River, St. Aubin-les-Elbeuf, Frankreich) mit einem Gewicht zwischen 390 und 490 g. Die Experimente wurden von der Bezirksregierung in Köln genehmigt und in Übereinstimmung mit den „Prinzipien der Labortierpflege“ (NIH Publikation No. 68-23, revidierte Fassung von 1985) und dem Deutschen Tierschutzgesetz im Institut für Medizin (Forschungszentrum Jülich GmbH) durchgeführt.

2.2.1.2.2. 6-Hydroxydopaminläsion

6-OHDA-Hydrobromid (Sigma, Taufkirchen, BRD) wurde in eisgekühltem 0.9% NaCl (0.2 mg/ml Ascorbinsäure) gelöst. Nach kurzzeitiger Inhalationsanästhesie mit Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, BRD) wurde den Ratten ein Gemisch von Ketaminhydrochlorid (Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen, BRD; Konzentration: 100 mg/ml, Dosis: 0.9 ml/kg) und Xylazinhydrochlorid (Rompun®, Bayer, Leverkusen, BRD; Konzentration: 0.02 mg/ml, Dosis: 0.4 ml/kg) in den Glutealmuskel injiziert. Nach Fixierung des Kopfes in einem Stereotakten erfolgte die unilaterale Applikation von 6-OHDA (Konzentration: 2 µg/µl, Injektionsvolumen: 4 µl) in die Pars compacta der Substantia nigra (stereotaktische Koordinaten: AP: -5.3 mm, L: ± 2 mm, DV: -8 mm; Paxinos & Watson, 1986). Zuvor hatten zahlreiche Untersuchungen gezeigt, dass 6-OHDA in der applizierten Dosis von 8 µg/4 µl striatale DA-Depletionen > 90% induziert (s. Übersichtsarbeit von Schwarting & Huston, 1996a,b). Das Injektionsvolumen wurde über einen Zeitraum von 2 Minuten verabreicht. Nach erfolgter Injektion wurde die Nadel für weitere 3 Minuten im Gehirn des Tieres belassen.

Die 6-OHDA-Läsion wurde unmittelbar nach der ersten PET-Messung vorgenommen (Tag 0). Die zweite und dritte PET-Messung fanden an Tag 2 und Tag 14 nach der Läsion statt. Unmittelbar nach der letzten PET-Messung wurden die anästhesierten Tiere dekapitiert. Die Gehirne wurden entnommen und einer histologischen Untersuchung hinsichtlich des intranigralen Injektionsortes unterzogen. Keine Ratte musste aufgrund ungenauer Kanülenplatzierung aus der Auswertung ausgeschlossen werden.

2.2.1.2.3. Radiochemie

[¹⁸F]FMB wurde vom Institut für Nuklearchemie (Forschungszentrum Jülich GmbH) zur Verfügung gestellt. Die Synthese erfolgte nach dem Verfahren von Moerlein und Mitarbeitern (Moerlein et al., 1992a). Die nukleophile aromatische Fluorinierung mittels Substituierung der O₂N-Gruppe durch ¹⁸F wurde durchgeführt, wie für den Butyrophenonliganden [¹⁸F]MSP beschrieben (Hamacher & Hamkens, 1995). Die mit HPLC bestimmte radiochemische Reinheit überstieg 98%. Die spezifische Aktivität zum Injektionszeitpunkt variierte im Bereich einer Größenordnung (Reichweite: >8 bis >150 TBq/mmol). Die injizierten molaren Mengen lagen zwischen 0.4 und 7 nmol.

2.2.1.2.4. PET-Messungen

Protokoll. Nach kurzzeitiger Inhalationsanästhesie mit Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, BRD) wurde den Ratten ein Gemisch von Ketaminhydrochlorid (Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen, BRD; Konzentration: 100 mg/ml, Dosis: 0.9 ml/kg) und Xylazinhydrochlorid (Rompun®, Bayer, Leverkusen, BRD; Konzentration: 0.02 mg/ml, Dosis: 0.4 ml/kg) in den Glutealmuskel injiziert. [¹⁸F]FMB (155 ± 34 MBq/kg) wurde mit 0.9% NaCl (10% Ethanol) verdünnt und in die V. jugularis appliziert. Das mittlere Injektionsvolumen betrug 1.0 ± 0.5 ml. Die Datenakquisition mit dem TierPET erfolgte über einen Zeitraum von 36 Minuten (sechs Zeitfenster von jeweils sechsminütiger Dauer) in Winkelschritten von 7.5° (30 s/Winkelschritt). Die Rekonstruktion erfolgte iterativ in aufeinanderfolgenden Schichten von 2 mm Dicke.

Datenanalyse. Für jedes Tier wurden die sechs Zeitfenster aufsummiert und das resultierende Summenbild mit dem MPI-Tool (Advanced Tomo Vision, Erftstadt, BRD) analysiert. Für jedes Tier wurden die Striata auf koronaren Schnittbildern lokalisiert. Um den Mittelpunkt des ipsi- wie kontralateralen Striatums wurde eine kreisförmige ROI mit einem Durchmesser von 2.5 mm gezogen. Dabei blieb die ROI-Definition auf den dorsalen Anteil des Striatums beschränkt; der ventral gelegene Nuc. accumbens wurde nicht berücksichtigt. Die Radioaktivitätskonzentrationen im ipsi- und kontralateralen Striatum wurden nach der „Late-Time“-Methode (s. Übersichtsarbeit von Ito et al., 1998) über die letzten drei Zeitfenster gemittelt und - wie in Absatz 2.1.1.2.4. beschrieben - für Partialvolumen- und Spill-over-Effekte korrigiert.

Aus den striatalen Radioaktivitätskonzentrationen (MBq/mm³) und den spezifischen Aktivitäten zu Beginn des vierten Zeitfensters wurden die molaren Radioligandenkonzentrationen (fmol/mg) berechnet. Die kortikale Radioaktivität wurde als Abschätzung für die freie und nicht-spezifische Radioligandenkonzentration im Gehirngewebe betrachtet. Die kortikalen Radioaktivitätskonzentrationen wurden ebenfalls in molare Radioligandenkonzentrationen umgerechnet und von den ipsi- und kontralateralen neostriatalen Radioligandenkonzentrationen subtrahiert, um die spezifische Bindung zu ermitteln.

Die ipsi- und kontralaterale spezifische Bindung (x-Achse) wurde gegen die freie Ligandenkonzentrationen (y-Achse) aufgetragen. Die B_{max}-Werte wurden mittels nicht-linearer Regressionsanalyse (GraphPad Prism, Version 3.0, GraphPad Software, San Diego, USA) durch Anpassung von Sättigungsbindungskurven an die Messdaten bestimmt. Wie in Absatz 2.1.2.2.3. beschrieben, wurden die Sättigungsbindungskurven durch die hyperbolische Funktion

$y = \frac{B_{\max} x}{K_D + x}$ beschrieben, wobei x und y den freien (nmol/l) beziehungsweise spezifisch gebundenen (fmol/mg) Radioaktivitätskonzentrationen [L] und [LR] entsprachen. Die Affinität von [¹⁸F]FMB für den D₂-Rezeptor wird zum einen durch die chemischen Eigenschaften von Ligand und Rezeptor und zum anderen durch die thermodynamischen Bedingungen bestimmt, die ihrer Interaktion zugrunde liegen. Infolgedessen kann der K_D-Wert nicht durch die Neurotoxin-Applikation verändert werden. Um die Anzahl der angepassten Parameter zu reduzieren, wurde K_D auf den in der vorangegangenen Untersuchung ermittelten Wert von 6.2 nM (s. Kapitel 2.1.2.) festgesetzt. Als Maß für die Genauigkeit der Anpassung der Sättigungsbindungskurven an die Messdaten werden die asymptotischen Standardabweichungen der B_{max}-Werte mitgeteilt.

Der Verlauf der angepassten ipsi- und kontralateralen Sättigungsbindungskurven wurde zwischen den einzelnen Messtagen mit dem F-Test verglichen (α = 0.05). Es wurde keine Korrektur für multiple Vergleiche vorgenommen.

2.2.1.3. Ergebnisse

Abb. 16 zeigt charakteristische koronale und transversale PET-Bilder desselben

Rattenkopfes vor und 14 Tage nach Injektion von 6-OHDA in die linke Substantia nigra. Zwischen Tag 0 und Tag 14 kommt es zu einem bilateralen Anstieg der striatalen Radioaktivitätskonzentration, die jedoch ipsilateral stärker als kontralateral ausgeprägt ist.

An Tag 0 betrugen ipsi- und kontralaterales $B_{\max}$ 19.3 ± 1.9 (MW $\pm$ SD) beziehungsweise 19.2 ± 2 fmol/mg. An Tag 2 zeigten ipsi- und kontralaterales $B_{\max}$ keine Veränderung (ipsilateral: 19.7 ± 2.2 fmol/mg, kontralateral: 21.2 ± 2.9 fmol/mg). An Tag 14 waren ipsi- und kontralaterale $B_{\max}$ -Werte um 55 beziehungsweise 44% erhöht und betrugen nunmehr 29.9 ± 5.7 beziehungsweise 28.6 ± 5.7 fmol/mg.

Der Vergleich der Sättigungsbindungskurven (Abb. 17) zwischen Tag 0 und Tag 14 ergab einen signifikanten Unterschied auf der Seite der Läsion (F-Test, $p = 0.04$). Kontralateral unterschieden sich die Kurven nicht signifikant zwischen Tag 0 und Tag 14 ($p = 0.08$). Für den Vergleich der Kurven zwischen Tag 0 und Tag 2 ergaben sich p-Werte von 0.9 (ipsilateral) und 0.56 (kontralateral), während die p-Werte für den Vergleich zwischen Tag 2 und Tag 14 0.08

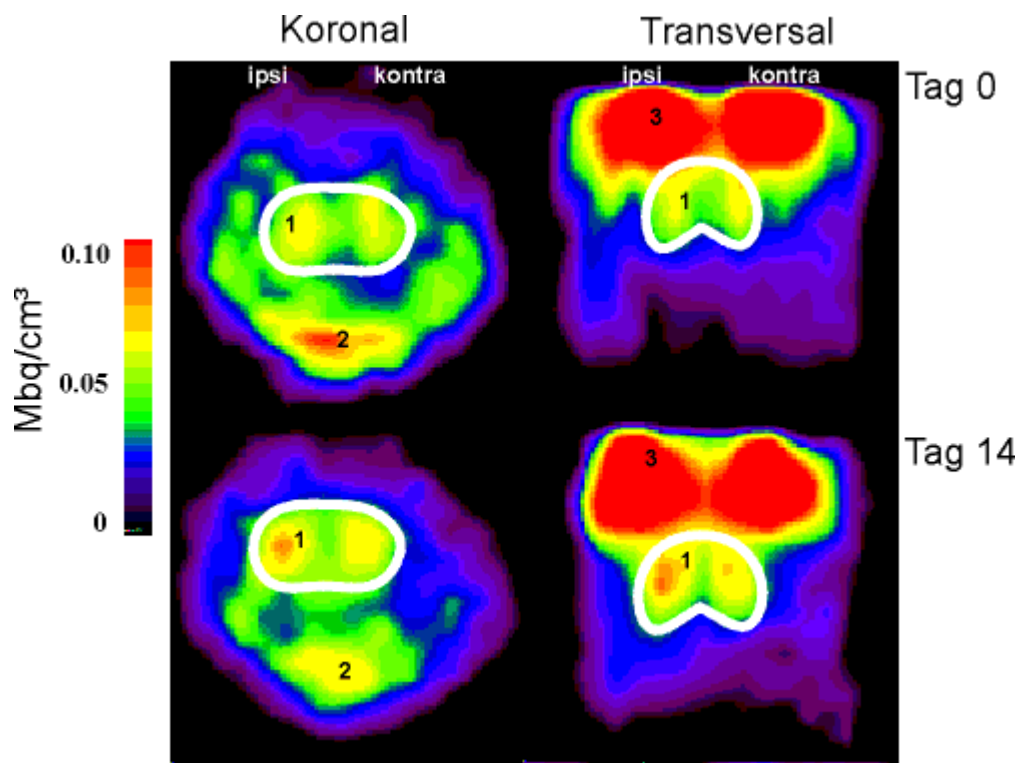


Abb. 16. In vivo Bildgebung der D_2 -Rezeptoren in der 6-OHDA-lädierten Ratte. Koronale (links) und transversale Schnittbilder (rechts) derselben Ratte vor (oben) und 14 Tage nach Injektion von 6-OHDA in die linke Substantia nigra (unten). Hohe [^{18}F]FMB-Anreicherungen zeigen sich in Striatum (1), Speicheldrüsen (2) und Harderschen Drüsen (3). An Tag 14 zeigt sich eine deutliche bilaterale Zunahme der neostriatalen Radioaktivitätskonzentration; dieser Effekt ist auf der Seite ipsilateral zur Läsion stärker ausgeprägt als kontralateral. Nach Nikolaus et al., 2003b.

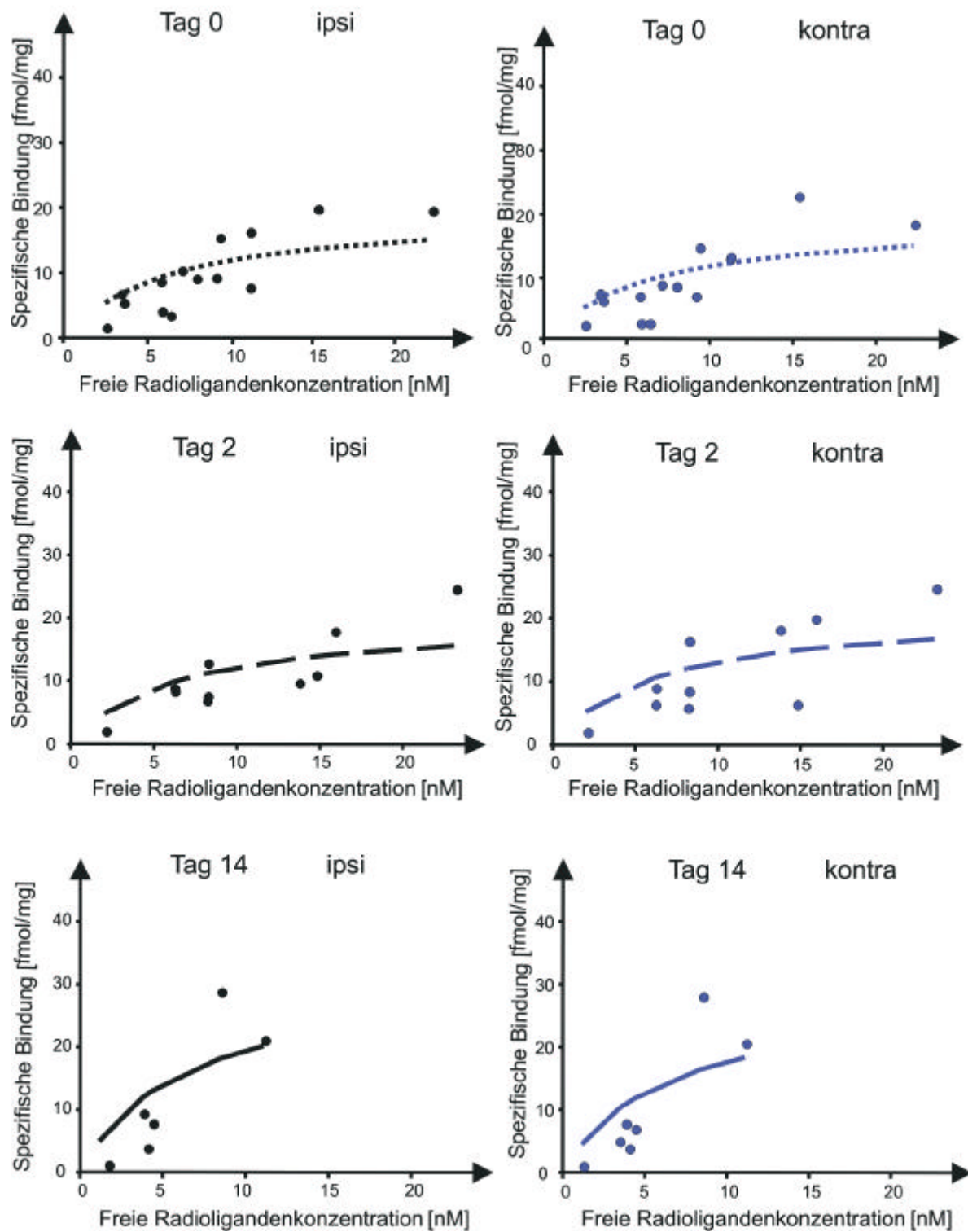


Abb. 17. Ipsi- und kontralaterale D₂-Rezeptorbindung im Striatum der Ratte zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor und nach 6-OHDA-Läsion. Die *in vivo* Sättigungsbindungskurven wurden mittels nicht-linearer Regressionsanalyse an die spezifische ipsi- und kontralaterale D₂-Rezeptorbindung angepasst. Die PET-Messungen wurden unmittelbar vor (Tag 0) sowie an Tag 2 und Tag 14 nach der Läsion an insgesamt 14 Tieren durchgeführt (s. auch Abb. 18).

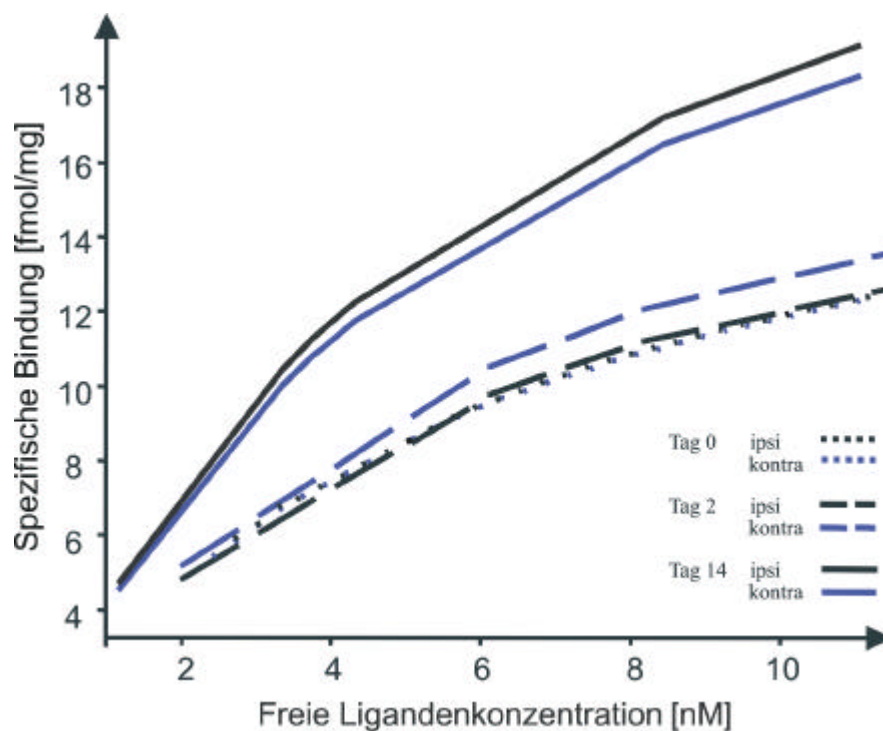


Abb. 18. Zusammenschau der einzelnen *in vivo* Sättigungsbindungskurven aus Abb. 17. Der Vergleich der Kurven mit dem F-Test zwischen Tag 0 und Tag 14 ergab einen signifikanten Unterschied auf der Seite der Läsion ($p = 0.04$). Kontralateral unterschieden sich die Kurven nicht signifikant (s. auch Abb. 17). Nach Nikolaus et al., 2003b.

(ipsilateral) und 0.12 (kontralateral) betragen. Abb. 18 zeigt die einzelnen Sättigungsbindungskurven der besseren Vergleichsmöglichkeit halber noch einmal in einer Zusammenschau.

2.2.1.4. Diskussion

Die Mehrfachuntersuchung der ipsi- und kontralateralen striatalen D_2 -Rezeptorbindung nach 6-OHDA-induzierter Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen zeigte eine zeitabhängige bilaterale Zunahme der $B_{\max}$ -Werte. Diese Zunahme war ipsilateral stärker ausgeprägt als kontralateral und kann als kompensatorische Hochregulation der D_2 -Rezeptoren infolge 6-OHDA-induzierten Reduktion der synaptischen DA-Konzentrationen interpretiert werden.

Diese erste Longitudinaluntersuchung der ipsi- und kontralateralen D₂-Rezeptorbindung an der 6-OHDA-lädierten Ratte bestätigt die autoradiographischen Befunde von Ferré und Fuxe, die als erste einen bilateralen, jedoch ipsilateral stärker ausgeprägten Anstieg der D₂-Rezeptordichte nach intranigraler 6-OHDA-Applikation nachzuweisen vermochten (Ferré & Fuxe, 1992). Überdies stimmen unsere Ergebnisse mit den *in vivo* Befunden von sowohl Antonini als auch Ichise und Mitarbeitern überein, die bei Patienten mit Morbus Parkinson eine bilaterale Zunahme der D₂-Rezeptordichte beobachteten (Antonini et al., 1994, Ichise et al., 1999). Sie widersprechen jedoch sowohl anderen *in vivo* Befunden an Parkinson-Patienten (Sawle et al., 1993, Kaasinen et al., 2000), als auch den Resultaten der oben erwähnten autoradiographischen (Neve et al., 1982, 1984, Ungerstedt et al., 1991) und *in vivo* Studien (Hume et al., 1995, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Inaji et al., 2005), die lediglich eine ipsilaterale Zunahme der D₂-Rezeptorbindung zeigten.

Ein Grund für diesen Widerspruch ist möglicherweise der Umstand, dass die Effekte der unilateralen DAergen Denervierung gemeinhin durch den Vergleich zwischen ipsi- und kontralateralem Neostriatum beschrieben werden. Es ist jedoch weder geklärt, bis zu welchem Grad das kontralaterale Neostriatum durch die intranigrale 6-OHDA-Applikation in Mitleidenschaft gezogen wird, noch welche kompensatorische Mechanismen im Laufe der Zeit in Gang gesetzt werden (s. Übersichtsarbeit von Schwarting & Huston, 1996a,b). Hinzu kommt, dass selbst wenn - wie in der *in vivo* Studie von Hume und Mitarbeitern (Hume et al., 1995) - mögliche kontralaterale 6-OHDA-induzierte Effekte untersucht wurden, dies lediglich durch den Vergleich der kontralateralen Seite zwischen lädierten Tieren und nicht-lädierten Kontrollen erfolgte, nicht aber, indem jedes Tier durch den Vergleich der D₂-Rezeptorbindung vor und nach 6-OHDA-Läsion als seine eigene Kontrolle diente.

In ihrer autoradiographischen Studie fanden Ferré und Fuxe im ipsilateralen Striatum eine im Vergleich zur kontralateralen Seite um etwa 20% erhöhte D₂-Rezeptordichte (Ferré & Fuxe, 1992); weiterhin war die kontralaterale D₂-Rezeptordichte gegenüber nicht-lädierten Kontrolltieren um ebenfalls etwa 20% erhöht. In unserer Untersuchung war die ipsilaterale im Vergleich zur kontralateralen D₂-Rezeptordichte um 4.3% erhöht, wobei die B_{max}-Werte zwei Wochen nach der Läsion die vor der Läsion gemessenen Werte um 55 beziehungsweise 49% überschritten. Der in unserer Studie kleinere Unterschied zwischen der ipsi- und der kontralateralen Bindung kann dabei auf den Umstand zurück zu führen sein, dass die letzte PET-

Messung zwei Wochen nach 6-OHDA-Applikation stattfand, während das autoradiographische Experiment in der Studie von Ferré und Fuxe zwölf Wochen nach der Läsion durchgeführt wurde. Des Weiteren wurden von Ferré und Fuxe lädierte und nicht-lädierte Ratten, nicht aber dieselben Tiere vor und nach der Läsion untersucht.

Die absoluten $B_{\max}$ -Werte sind in unserer Studie gegenüber den von Ferré und Fuxe ermittelten Werte um einen Faktor 5 erniedrigt. In der zuvor durchgeführten Untersuchung haben wir einen Unterschied gleicher Größenordnung zwischen den mit PET (19 fmol/mg) und mit Autoradiographie (84 fmol/mg) ermittelten $B_{\max}$ -Werten beobachtet, während die *in vivo* und *in vitro* gemessenen K_D -Werte übereinstimmten (s. Absatz 2.1.2.3.). Eine wahrscheinliche Ursache für diesen Unterschied ist der Partialvolumeneffekt. Mit dem TierPET durchgeführte Phantomstudien haben gezeigt, dass die Radioaktivitätskonzentrationen in einer Zielregion mit einem Durchmesser von 2.5 mm - also in der Größenordnung der striatalen Durchmesser auf den für die ROI-Definition verwendeten koronaren Schnittbilder - um etwa 60% unterschätzt werden. Auf der Grundlage dieser Messungen wurden die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen auch in dieser Studie korrigiert. Dabei wurde für alle Messungen der gleiche Korrekturfaktor verwendet; da die Korrekturfaktoren nicht individuell für die tatsächlichen striatalen Durchmesser auf den für die ROI-Definition verwendeten Schnittbildern bestimmt wurden, sind Unterschätzungen der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen bei striatalen Durchmessern < 2.5 mm nicht auszuschließen.

In etlichen Untersuchungen wurde der Frage nachgegangen, zu welchem Zeitpunkt nach der intranigralen 6-OHDA-Applikation Veränderungen in der striatalen D_2 -Rezeptorbindung zu Tage treten. Wir beobachteten praktisch keine Zunahme der D_2 -Rezeptorbindung am zweiten Tag nach der Läsion. Dies stimmt mit den Befunden von Staunton und Mitarbeitern überein, die an Tag 1 und Tag 2 nach der Läsion ähnliche D_2 -Rezeptordichten beobachteten (Staunton et al., 1981). Von Mishra und Mitarbeitern wie auch Narang und Wamsley wurde überdies auch an Tag 4 und Tag 7 nach der Läsion noch keine Veränderung der D_2 -Rezeptordichte beobachtet (Mishra et al., 1980, Narang & Wamsley, 1995). In zwei Fällen wurde eine Rezeptorhochregulation erst 14 Tage nach der Läsion beobachtet (Staunton et al., 1981, Narang & Wamsley, 1995), während in zwei weiteren Fällen eine Rezeptorhochregulation bereits an Tag 2 nach Neurotoxin-Applikation in Erscheinung trat (Guerin et al., 1985, Chalon et al., 1999). In drei weiteren Untersuchungen wurde eine Zunahme der D_2 -Rezeptorbindung an Tag 7 (Neve et al., 1984, Pan

et al., 1985) beziehungsweise Tag 10 nach der Läsion (Mishra et al., 1980) beschrieben. Feuerstein und Mitarbeiter berichteten sogar eine Reduktion der D₂-Rezeptorbindung zwischen Tag 1 und Tag 6 nach der Läsion, der eine Zunahme bis Tag 13 folgte (Feuerstein et al., 1981a). Mithin sind die Befunde hinsichtlich des Zeitverlaufs der Rezeptorregulation nach 6-OHDA-Läsion keineswegs konsistent; zusammengefasst lässt sich jedoch sagen, dass in den meisten Fällen eine Zunahme der D₂-Rezeptorbindung zwischen der ersten und zweiten Woche nach der Läsion beobachtet wurde.

Eine mögliche Ursache für die mangelnde Übereinstimmung zwischen den Untersuchungsergebnissen sind die unterschiedlichen verwendeten Radioliganden - Butyrophenone und Benzamide - die sich hinsichtlich ihrer Affinität und Selektivität für den D₂-Rezeptor unterscheiden. Überdies differieren die Tiere hinsichtlich der Läsionsgrößen nicht nur innerhalb eines Experimentes, sondern auch zwischen den einzelnen Untersuchungen; dies gilt selbst dann, wenn die gleichen Neurotoxindosen appliziert werden (s. Übersichtsarbeit von Schwarting & Huston, 1996a,b). Folglich werden Tiere in Gruppen zusammengefasst, die sich hinsichtlich der experimentellen Parameter unterscheiden, die den Rezeptorstatus maßgeblich beeinflussen. Hierunter leidet in der Folge auch die Vergleichbarkeit der in den einzelnen Experimenten erzielten Befunde. Ein Vorteil der *in vivo* Methode besteht darin, dass die individuellen Unterschiede zwischen den Tieren dadurch kompensiert werden können, dass der Vergleich der Rezeptorparameter für jede einzelne Ratte über einen längeren Zeitraum möglich ist. Dabei erhellt aus der Übereinstimmung zwischen der hier dargestellten PET-Untersuchung und den autoradiographischen Studien hinsichtlich der Bilateralität (Ferré & Fuxe, 1992) und des Zeitverlaufs (Mishra et al., 1980, Narang & Wamsley, 1995) der D₂-Rezeptorbindung die Eignung des TierPETs für die Durchführung von *in vivo* Studien am 6-OHDA-Modell der Ratte.

Die hier dargestellten Befunde zeigen, dass die unilaterale DAerge Denervierung langanhaltende bilaterale Einflüsse auf das DAerge System zeitigt. Dabei liegt die Annahme nahe, dass die Zunahme der D₂-Rezeptoren die Einbußen an synaptischem DA kompensiert: da auf diese Weise mehr Rezeptoren für die verringerte Anzahl der DA-Moleküle zur Verfügung stehen, kann die DAerge Neurotransmission aufrecht erhalten oder sogar gesteigert werden. In unserer Studie wurden keine Verhaltensasymmetrien quantifiziert, während Ferré und Fuxe diese zwar erhoben, aber ihr Ausmaß lediglich als Ausschlusskriterium für die Tiere mit subtotalen Läsion verwendeten (Ferré & Fuxe, 1992). Um zu klären, worin die funktionelle Bedeutung der

bilateral erhöhten DAergen Aktivität besteht, wäre es erforderlich, Verhaltensasymmetrien und D₂-Rezeptorbindung an denselben Tieren zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor und nach 6-OHDA-Läsion zu untersuchen. Ferner wäre es sinnvoll, wenigstens bei einigen Tieren zusätzliche *in vivo* Mikrodialyseuntersuchungen durchzuführen und durch Bestimmung der ipsi- und kontralateralen Konzentrationen von DA und seinen Metaboliten neurochemische Korrelate zu Verhalten und Rezeptorbindung zu erheben.

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Erholung von 6-OHDA-induziertem ipsiversivem Drehverhalten mit einer bilateralen Zunahme des DA-Metabolismus‘ im dorsalen (Nikolaus et al., 1998) und ventralen Striatum (Nikolaus et al., 1997) einhergeht. Nach 6-OHDA-Läsion wurden neben kompensatorischen Zunahmen der DA-Umsatzraten auch Regulationsprozesse beobachtet, die mit neuronaler Plastizität assoziiert sind: so beobachteten Pritzel und Mitarbeiter, dass die Reduktion der Verhaltensasymmetrie von einer zunehmenden Sprossung gekreuzter Projektionen von der intakten Substantia nigra zu ventromedialem Thalamus und Neostriatum der geschädigten Hemisphäre begleitet ist (Pritzel et al., 1981, 1983). Reaktive Synaptogenese ist ein in der Literatur häufig beschriebener Kompensationsmechanismus (s. Übersichtsarbeit von Huston et al., 1990) und stellt - insbesondere bei Tieren mit subtotalen unilateralen nigrostriatalen Depletionen - eine mögliche Ursache für die beobachtete Zunahme der kontralateralen D₂-Rezeptorbindung dar.

Unsere Methode ist insofern neu, als wir nicht die B_{max}-Werte zwischen lädierter Seite und nicht-lädierter Kontrolle, sondern den Verlauf der Bindungskurven über die Zeit verglichen. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist dieses Verfahren bei der Modellierung von Mobus Parkinson mittels 6-OHDA-Läsionen ungewöhnlich. Bislang wurden 6-OHDA-induzierte Defizite sowie einsetzende Erholungsprozesse durch Quantifizierung der Verhaltensasymmetrien, *post mortem* Bestimmung der Konzentrationen von DA und seinen Metaboliten mittels HPLC oder Darstellung der Rezeptorbindung mittels *ex vivo* Autoradiographie untersucht. Von diesen Methoden erlaubt lediglich die numerische Erfassung von Drehverhalten und Thigmotaxis die Beobachtung desselben Tieres über einen längeren Zeitraum; die Anwendung aller übrigen Verfahren erfordert eine Beschränkung auf die Betrachtung der ipsi- zu kontralateralen Unterschiede zu einem bestimmten Zeitpunkt bei einem einzelnen Tier. Im Gegensatz hierzu ermöglicht unsere *in vivo* Methode die getrennte Betrachtung der ipsi- und kontralateralen 6-OHDA-induzierten Veränderungen über die Zeit. Unser Hinweis auf einen kontralateralen

Anstiegs der D₂-Rezeptorbindung unterstreicht dabei die Bedeutung der kontralateralen Hemisphäre für Kompensations- und Erholungsprozesse im 6-OHDA-Modell der Ratte.

2.2.2. Quantifizierung der [¹²³I]FP-CIT-Bindung an den striatalen Dopamintransporter bei unbehandelten Ratten und nach pharmakologischer Blockade mit Methylphenidat⁵

2.2.2.1. Einleitung

Zahlreiche *in vivo* Untersuchungen der DAT- und D₂-Rezeptorbindung haben gezeigt, dass verschiedene neurologische und psychiatrische Erkrankungen wie Morbus Parkinson (Rinne et al., 1990, Hierholzer et al., 1992, Innis et al., 1993), MSA (Verhoeff et al., 1990), Schizophrenie (Wong et al., 1985), Depression (D'haenen & Bossuyt, 1994, Neumeister et al., 2001), ADHS (Dougherty et al., 1999) und Drogenmissbrauch (Volkow et al., 1994, 1997) mit Funktionsstörungen des DAergen Systems assoziiert sind. Fehlfunktionen der DAergen Neurotransmission können unter anderem auf Veränderungen in der synaptischen DA-Konzentration und in den Verfügbarkeiten der präsynaptischen Transporter- oder postsynaptischen Rezeptorbindungsstellen zurückzuführen sein. Zahlreiche *in vivo* Befunde legen dabei eine Beziehung zwischen der synaptischen Neurotransmitterkonzentration und der Dichte der prä- wie postsynaptischen Bindungsstellen nahe: so konnte bei Parkinsonpatienten gezeigt werden, dass die Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen zu einer Verringerung der endogenen DA-Konzentrationen führt, die ihrerseits eine Reduktion der striatalen DAT-Dichte (Innis et al., 1993) und eine kompensatorische Hochregulation der postsynaptischen D₂-Rezeptorbindungsstellen induziert (Rinne et al., 1990). Dies gilt für die Frühphase der Erkrankung; im fortgeschrittenen Stadium wird auch eine postsynaptische Reduktion der Bindungsstellen augenfällig (Hierholzer et al., 1992). Das Ineinandergreifen prä- und postsynaptischer Regulationsmechanismen erhellt ebenso aus Untersuchungen an depressiven Patienten, die eine Abnahme des DAT- (Neumeister et al., 2001) und eine Zunahme der D₂-Rezeptorbindung zeigten (D'haenen & Bossuyt, 1994). Ein weiteres Beispiel ist die Wirkung des synaptischen DAs auf die postsynaptische D₂-Rezeptorbindung nach Challenge mit Stimulanzien wie MP, die eine Erhöhung der DA-Konzentration im synaptischen Spalt und auf diese Weise eine Verringerung der verfügbaren D₂-Rezeptoren induzieren (Volkow et al., 1994).

Nach der in Kapitel 2.2.1. geschilderten Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit im

⁵ Durchführung des Experimentes: Januar 2003 – Juli 2004; Erstpublikation: Oktober 2004(online)

Striatum der normalen, unbehandelten Ratte und nach 6-OHDA-induzierter Reduktion der synaptischen DA-Konzentration wenden wir uns nunmehr der Quantifizierung der DAT-Verfügbarkeit im Striatum der unbehandelten und der MP-behandelten Ratte zu.

MP wurde im Jahre 1944 synthetisiert und ursprünglich zur Behandlung von chronischer Müdigkeit, Lethargie, Depression und Narkolepsie eingesetzt (s. Übersichtsarbeit von Leonard et al., 2004). Heutzutage beschränkt sich seine Anwendung auf die Behandlung von ADHS bei Kindern. MP ist ein piperazinsubstituiertes Phenylisopropylamin (Abb. 4), das - wie viele AMPH-Derivate - als psychomotorisches Stimulans wirkt. Es hat zwei chirale Zentren und kann folglich in vier verschiedenen Stereoisomeren vorliegen. Da die *erythro*-Isomere nur eine geringe stimulierende Wirkung zeitigen (Szoporny & Gorog, 1961), wird beim Menschen eine racemische Mischung aus D- und L-*threo*-MP (Ritalin) eingesetzt. Dabei konnte jedoch gezeigt werden, dass die pharmakologische Aktivität vornehmlich dem D-*threo*- Enantiomer innewohnt, das nicht nur in höherem Maße lokomotorische Aktivität induziert, sondern auch eine gesteigerte Inhibierung der DA- und NA-Wiederaufnahme in striatale und hypothalamische Synaptosomen bewirkt (Patrick et al., 1987).

DL-*threo*-MP wird rasch absorbiert, wobei die maximale Plasmakonzentration 1 bis 3 Stunden nach oraler Verabreichung erreicht wird. Auch die Metabolisierung erfolgt zügig; zu 80% wird MP zu Ritalinsäure umgesetzt und über die Niere ausgeschieden (Wargin et al., 1983, Patrick et al., 1981, Aoyama et al., 1994). Ein weiterer Metabolit ist das DL-*threo*-6-Oxo-MP, das bei der Ratte zu DL-*threo*-5-Hydroxy-6-oxo-MP umgesetzt wird, jedoch in so niedrigen Konzentrationen im Gehirn nachgewiesen wurde, dass eine Mediierung zentraler Effekte durch diese Substanz praktisch ausgeschlossen ist (Patrick et al., 1981).

Beim Menschen liegt die absolute Bioverfügbarkeit von DL-*threo*-MP zwischen 11 und 53% (Chan et al., 1983); auch für die Ratte wurde eine absolute Bioverfügbarkeit von nur etwa 20% nachgewiesen (Wargin et al., 1983). Dies hat seine Ursache in dem ausgeprägten präsystemischen Metabolismus von MP, infolgedessen es zu etwa der gleichen Zeit wie sein hauptsächlicher Metabolit, die Ritalinsäure, in den systemischen Kreislauf gelangt. Überdies konnte gezeigt werden, dass MP - neben dem nicht-enzymatischen Abbau zu Ritalinsäure - durch Plasma- oder Gewebeesterasen hydrolysiert zu werden vermag (Wargin et al., 1983). Dieses breite metabolische Spektrum bietet eine Erklärung für die beobachtete große inter- und intraindividuelle Variabilität hinsichtlich der MP-Konzentrationen im Plasma und der zum

Erreichen der optimalen pharmakologischen Wirkung erforderlichen klinischen Dosen (Volkow et al., 1996).

Die Akkumulation von MP im Gehirn erfolgt - wie bei AMPH - durch Diffusion. Dabei konnte gezeigt werden, dass bei physiologischem pH nur etwa 3.8% des verabreichten MPs in der lipophilen unpolaren Form vorliegen, die in Gewebe mit hohem Lipidanteil zu diffundieren vermag. *In vitro* Studien zeigten, dass die höchste spezifische Bindung von [^3H]MP in Caudatoputamen, Tuberculum olfactorium, Nuc. accumbens, Stria terminalis und Eminentia mediana erfolgt; eine niedrigere spezifische Bindung wurde im frontalen Kortex und im Gyrus dentatus gefunden (Unis et al., 1985). Janowsky und Mitarbeiter beobachteten, dass Läsionen der aufsteigenden katecholaminergen Faserverbindungen eine Abnahme der striatalen [^3H]MP-Bindung induzieren (Janowsky et al., 1985); dabei legte die positive Korrelation zwischen der Reduktion der striatalen [^3H]MP-Bindung und der Verringerung der DA-Wiederaufnahme eine Bindung von MP an den präsynaptischen DAT nahe. Eine Bestätigung hierfür ergaben die Befunde von Unis und Mitarbeitern, die *in vitro* zeigten, dass [^3H]MP durch den DA-Wiederaufnahmehemmer Nomifensin von seinen Bindungsstellen verdrängt zu werden vermag (Unis et al., 1985).

Weitere Untersuchungen zeigten, dass MP mit DA um die DAT-Bindungsstellen kompetitiert und die DA-Wiederaufnahme mit einer dem Kokain vergleichbaren Potenz inhibiert (Gatley et al., 1996): *in vitro* wurde für MP ein K_i -Wert von 390 nM nachgewiesen während der K_i von Kokain 640 nM beträgt (Ritz et al., 1987). Neben dem DAT bindet MP auch an NET und SERT, wobei die entsprechenden K_i -Werte bei 256 nM beziehungsweise > 10000 nM liegen (Lile et al., 2003).

Dissektionsstudien bei der Ratte zeigten eine dosisabhängige Inhibierung der [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]TRODAT- (Dresel et al., 1998) wie auch [^{123}I]FP-CIT-Bindung (Reneman et al., 2001) an den DAT nach Verabreichung von MP (0.35 - 3 mg/kg beziehungsweise 10 und 40 mg/kg). Fowler und Mitarbeiter bestimmten die DAT-Verfügbarkeit im Humanversuch nach Applikation unterschiedlicher MP-Dosen (0.05 - 0.9 mg/kg) mit PET und [^{11}C]Kokain als DAT-Radioligand und fanden eine nahezu 80%ige DAT-Besetzung bei einer MP-Dosis von 0.5 mg/kg (Fowler et al., 1989); mithin kann der ED_{50} - die Dosis, die für die Blockade von 50% der verfügbaren DATs erforderlich ist - auf 0.25 mg/kg geschätzt werden. Dies wurde in einer späteren Untersuchung von Volkow und Mitarbeitern bestätigt (Volkow et al., 1998). Weiterhin zeigten

Fowler und Mitarbeiter, dass eine MP-Plasmakonzentration von 6 ng/ml mit einer 50%igen DAT-Blockade einhergeht (Fowler et al., 1989); da bei Kindern mit ADHS, die effektiv mit MP behandelt wurden, Plasmakonzentrationen nachgewiesen wurden, die 6 ng/ml überstiegen (Srinivas et al., 1992), kann hieraus gefolgert werden, dass für die therapeutische Wirksamkeit von MP eine wenigstens 50%ige Inhibierung des DAT erforderlich ist.

Bei der Ratte wurde bis *dato* noch keine *in vivo* Studie zur DAT-Verfügbarkeit nach Applikation von MP durchgeführt. Gegenstand unserer im Folgenden dargestellten Untersuchung war daher die Quantifizierung der DAT-Verfügbarkeit in Striatum und frontalem Kortex der normalen, unbehandelten Ratte sowie nach pharmakologischer Blockade mit zwei verschiedenen MP-Dosen. Die Studie wurde mit dem TierSPECT und [^{123}I]FP-CIT als Radioligand durchgeführt (Nikolaus et al., 2005a, in Vorbereitung).

2.2.2.2. Methode

2.2.2.2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 27 männliche Wistar-Ratten (Tierversuchsanlage, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf). Vierundzwanzig Tiere mit einem Gewicht von 406 ± 48 g wurden mittels [^{123}I]FP-CIT untersucht; drei weiteren Tieren wurde [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin oder [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO verabreicht, um Bilder des Knochenstoffwechsels, der Weichteilgewebepерfusion und der Gehirnperfusion zu erhalten. Die Experimente wurden von der Bezirksregierung in Düsseldorf genehmigt und in Übereinstimmung mit den „Prinzipien der Labortierpflege“ (NIH Publikation No. 68-23, revidierte Fassung von 1985) und dem Deutschen Tierschutzgesetz in der Nuklearmedizinischen Klinik (Universitätsklinikum Düsseldorf) durchgeführt.

2.2.2.2.2. SPECT-Messungen

Bildgebung des DAT. Den Ratten wurde intraperitoneal entweder 3 mg/kg MP (Medikinet®; zur Verfügung gestellt von Medice GmbH & Co.KG, Iserlohn, BRD; n = 9, Konzentration: 3 mg/ml), 10 mg/kg MP (n = 8, Konzentration: 10 mg/ml) oder Vehikel (n = 7, 0.9% NaCl) injiziert. Eine Stunde später wurden die Tiere kurzzeitig mit Isofluran (Forene®,

Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, BRD) anästhesiert und erhielten Injektionen von Ketaminhydrochlorid (Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen, BRD; Konzentration: 100 mg/ml, Dosis: 0.9 ml/kg) und Xylazinhydrochlorid (Rompun®, Bayer, Leverkusen, BRD; Konzentration: 0.02 mg/ml, Dosis: 0.4 ml/kg) in den Glutealmuskel. [^{123}I]FP-CIT (Amersham Buchler, Braunschweig, BRD; 21 ± 7 Mbq; Konzentration: 0.07 - 0.13 $\mu\text{g/ml}$, spezifische Aktivität: $2.45 - 4.5 \times 10^{14}$ Bq/mmol) wurde den Tieren mit Hilfe eines Butterflys in die laterale Schwanzvene appliziert. Der Schlauch des Butterflys wurde mit 1 ml 0.9%iger Kochsalzlösung gespült, so dass das gesamte Injektionsvolumen 1.3 ml betrug.

Da vorausgegangene Untersuchungen am Menschen gezeigt haben, dass das Equilibrium der [^{123}I]FP-CIT-Bindung zwei Stunden nach Injektion erreicht ist und in den folgenden sechs Stunden stabil bleibt (Seibyl et al., 1998, Booij et al., 1999), wurden die TierSPECT-Messungen zwei Stunden nach Radioligandenapplikation durchgeführt. Die Datenakquisition erfolgte in Winkelschritten von 6° (60 Projektionen, 60 s/Projektion) mit einem Rotationsradius von 65 mm. Das Energiefenster wurde auf den Gamma-Photopeak von ^{123}I (159 keV $\pm$ 15%) eingestellt.

Darstellung des Knochenstoffwechsels, der Weichteilgewebepfusion und der Gehirnpfusion. Drei Ratten wurden anästhesiert, wie oben beschrieben. Im Anschluss wurde ihnen 60 MBq [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD (CIS Diagnostik, Berlin, BRD), 20 MBq [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin (Amersham Buchler, Braunschweig, BRD) oder 240 MBq [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO (Amersham Buchler, Braunschweig, BRD) in die laterale Schwanzvene injiziert. Die Tracer-Akkumulationen wurden mit dem TierSPECT 90 ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD), 70 ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin) und 20 Minuten ([$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO) nach Applikation gemessen. Die Datenakquisition erfolgte in Winkelschritten von 6° (60 Projektionen, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD: 60 s/Projektion, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin: 45 s/Projektion, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO: 90 s/Projektion) mit einem Rotationsradius von 65 mm. Das Energiefenster wurde auf den Gamma-Photopeak von $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (140 keV $\pm$ 15%) eingestellt.

Datenanalyse. Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem MPI-Tool (Advanced Tomo Vision, Erftstadt, BRD). Abb. 19A veranschaulicht die Identifikation von Striatum, Kortex und Zerebellum relativ zu mittels [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin und [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO visualisierten quasi-anatomischen Landmarken. Da weder [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD noch [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin die Blut-Hirn-Schranke durchdringen und den Knochenstoffwechsel beziehungsweise die Weichteilgewebepfusion darstellen, erlaubt ihre Verteilung die Lokalisierung von Schädelhöhle, Augenhöhlen und Harderschen Drüsen (Abb. 19A, linke Spalte). Folglich kann

das Striatum auf den [^{123}I]FP-CIT-Bildern (Abb. 19A, rechte Spalte) relativ zu Kraniaum und Orbitae und zu den extrazerebralen Anreicherungen von [^{123}I]FP-CIT in den Harderschen Drüsen lokalisiert werden. Die Überlagerung von [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD- und [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO-Scan (Abb. 19A, mittlere Spalte) erlaubt die Identifizierung des frontalen Kortex' und des Zerebellums relativ zum Kraniaum (Abb. 19A, zweite Spalte) und ermöglicht so die Lokalisierung dieser Regionen auf den [^{123}I]FP-CIT-Bildern anhand der rostralen und kaudalen [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO-Akkumulationen (Abb. 19A, rechte Spalte).

Auf einem [^{123}I]FP-CIT-[$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD-Fusionsbild wurde ein Template mit striatalen, kortikalen und zerebellären ROIs definiert, die kreisförmige (Striatum) oder ellipsoide (Neokortex, Zerebellum) Flächen mit einer Größe von 1.5, 1.8 beziehungsweise 7 mm² umschrieben und über dem Aktivitätsmaximum der jeweiligen Strukturen platziert wurden. Dieses Template (Abb. 19B) wurde auf die Bilder der mit MP und Vehikel behandelten Ratten übertragen, wobei die einzelnen ROIs ohne Veränderung ihres Umrisses oder ihrer Größe über die jeweiligen Aktivitätsmaxima gelegt wurden.

Da auch die Harderschen Drüsen und die Speicheldrüsen durch eine ausgeprägte Radioaktivitätsakkumulation gekennzeichnet sind, wurden auch innerhalb dieser Strukturen auf transversalen beziehungsweise sagittalen Bildern ROIs (Fläche: 1.5 mm²) definiert. Dabei ist bei der räumlichen Auflösung des TierSPECTs keine Differenzierung zwischen den Radioaktivitätsanreicherungen in den paarigen Speicheldrüsen, die sich über den gesamten ventralen Halsbereich ausdehnen und den dorsal von ihnen gelegenen Schilddrüsen möglich, die eine Länge von lediglich 1 mm aufweisen und beiden Seiten der Trachea anliegen.

Bestimmung von V_3 “. Bei der Beschreibung des kinetischen Verhaltens von [^{123}I]FP-CIT kann man von einem Drei-Kompartiment-Modell mit einem Blutplasma- (C_1) und zwei Gewebekompartimenten C_2 und C_3 ausgehen, die die arteriellen, freien plus nicht-spezifisch gebundenen und spezifisch gebundenen Radioligandenkonzentrationen bezeichnen. Für die exakte Bestimmung des BPs ist die Messung der nicht-metabolisierten und nicht an Proteine gebundenen Fraktionen in C_1 erforderlich; sind diese Werte nicht verfügbar, müssen Abschätzungen des BPs vorgenommen werden. Dies kann durch die Bestimmung von V_3 “erfolgen, dass den Quotienten der Verteilungsvolumina des spezifischen und nicht-spezifischen Kompartimentes (V_3/V_2) im Zustand des Equilibriums darstellt. V_3 “ ergibt sich aus $(V_T/V_2)-1$, wobei V_T das Gesamtgewebeverteilungsvolumen bezeichnet und gleich der Summe

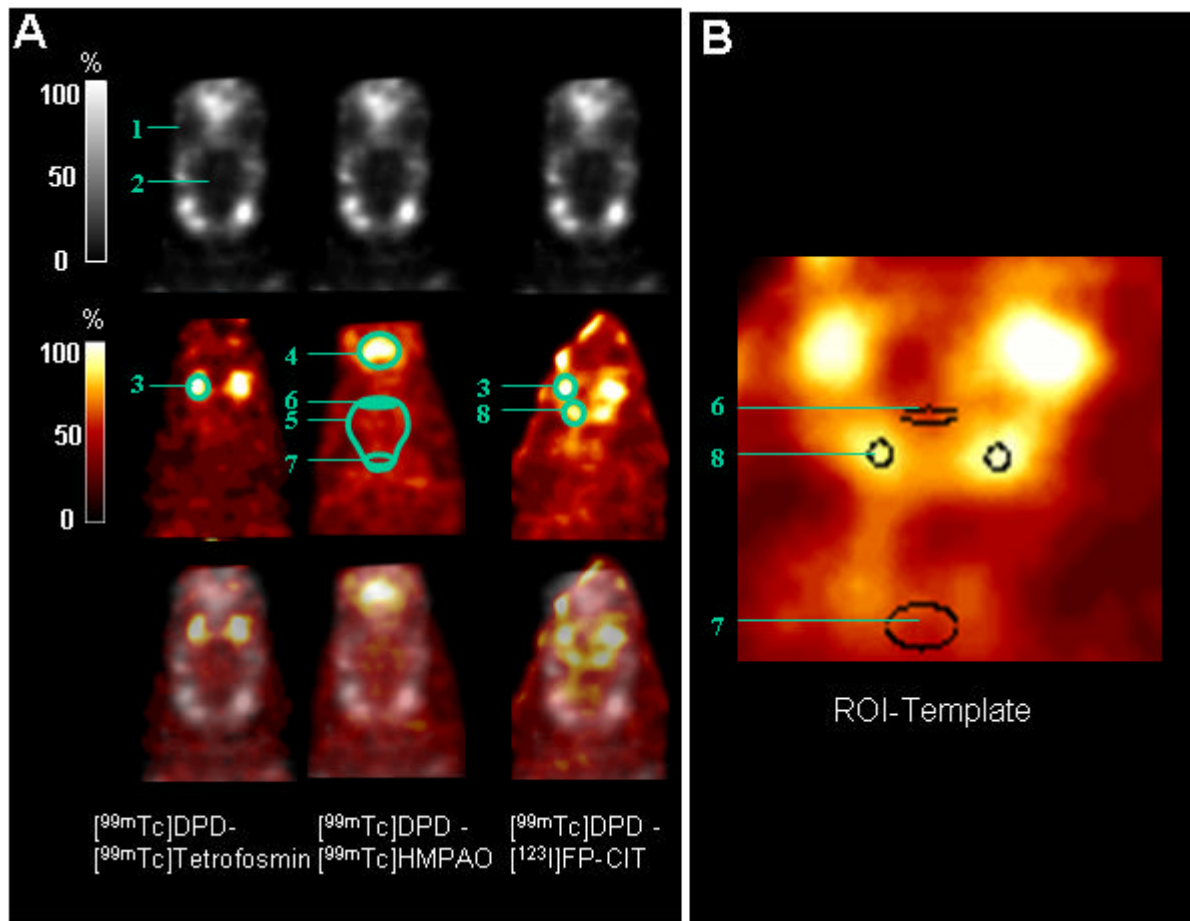


Abb. 19. (A) Identifikation des Striatums und des Zerebellums bei der Ratte nach $[^{123}\text{I}]\text{FP-CIT}$ -Applikation.. Die linke Spalte zeigt einen $[^{99m}\text{Tc}]\text{DPD}$ - (oben) und einen $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tetrofosmin}$ -Scan (Mitte) des Rattenkopfes sowie die Überlagerung von Knochenstoffwechsel- und Perfusionsscan (unten). Da diese Tracer nicht die Blut-Hirn-Schranke durchdringen, erlaubt ihre Verteilung die Lokalisierung von Augenhöhlen (1), Schädelhöhle (2) und Harderschen Drüsen (3). Die mittlere Spalte zeigt einen $[^{99m}\text{Tc}]\text{DPD}$ - (oben) und einen $[^{99m}\text{Tc}]\text{HMPAO}$ -Scan (Mitte) sowie die Überlagerung von Knochenstoffwechsel- und - und Gehirnperfusionsscan (unten). Die Fusion der $[^{99m}\text{Tc}]\text{DPD}$ - und $[^{99m}\text{Tc}]\text{HMPAO}$ -Bilder ermöglicht die Überlagerung von Kraniaum (2) und zerebraler $[^{99m}\text{Tc}]\text{HMPAO}$ -Akkumulation (5) und erlaubt die Identifizierung des frontalen Kortex' (6) und des Zerebellums (7) relativ zum Kraniaum. Die rechte Spalte zeigt einen $[^{99m}\text{Tc}]\text{DPD}$ - (oben) und einen $[^{123}\text{I}]\text{FP-CIT}$ -Scan (Mitte) sowie die Überlagerung von $[^{99m}\text{Tc}]\text{DPD}$ - und einen $[^{123}\text{I}]\text{FP-CIT}$ -Bildern (unten). Die Fusion erlaubt die Identifikation des Rattenstriatums (8) relativ zu Orbitae (1), Kraniaum (2) und zur Lokalisation der den $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tetrofosmin}$ -Anreicherungen entsprechenden extrazerebralen $[^{123}\text{I}]\text{FP-CIT}$ -Akkumulationen in den Harderschen Drüsen (3). Ausserdem können Kortex (6) und Zerebellum relativ zum Kraniaum (2) und zur Lokalisation kortikaler (5) und zerebellärer (7) $[^{99m}\text{Tc}]\text{HMPAO}$ -Akkumulationen identifiziert werden. (4), Riechschleimhaut. (B). Template der striatalen (8), kortikalen (6) und zerebellären (7) Zielregionen. Die ROIs umschreiben Flächen mit einer Größe von 1.5, 1.8 beziehungsweise 7 mm². Nach Nikolaus et al., 2005a.

aus V_2 und V_3 ist. Sind die Gleichgewichtskonzentrationen des freien und des nicht-spezifisch gebundenen Liganden in allen Gehirnregionen gleich, kann V_2 aus einer transporter- oder rezeptorfreen Region (REF) abgeleitet werden, und V_3 ergibt sich aus $V_T(\text{ROI})/V_T(\text{REF})-1$ (Laruelle et al., 1994). Dieses semiquantitative Maß hängt mit BP wie folgt zusammen; $V_3'' =$

$V_3/V_2 = BP/V_2 = B_{\max}/V_2K_D = k_3/k_4$ (s. Übersichtsarbeit von Ichise et al., 2001).

Auswertung. Striatale und kortikale V_3'' -Werte wurden für MP- und vehikelbehandelte Tiere aus den Radioaktivitätskonzentrationen (Counts/mm³) in ROIs und zerebellären REFs berechnet. Linke und rechte striatale Radioaktivitätskonzentrationen wurden für jedes Tier gemittelt. Für jede Behandlungsgruppe wurden die Daten mit dem nicht-parametrischen Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet ($0.48 < p < 0.99$). Die Zählraten in Speicheldrüse und Harderschen Drüsen wurden auf das Kleinhirn normiert; auch diese Quotienten waren normalverteilt ($0.22 < p < 1.0$). Für jede Behandlungsgruppe wurden über die striatalen und kortikalen V_3'' -Werte sowie über die glandulären Quotienten MWs und SDs berechnet. Zwischen den Behandlungsgruppen wurden V_3'' -Werte und glanduläre Quotienten mit dem t-Test für unabhängige Stichproben verglichen (zweiseitig, $\alpha = 0.05$).

2.2.2.3. Ergebnisse

Abb. 20 zeigt die [¹²³I]FP-CIT-Bindung an den striatalen DAT bei einer mit MP (3 mg/

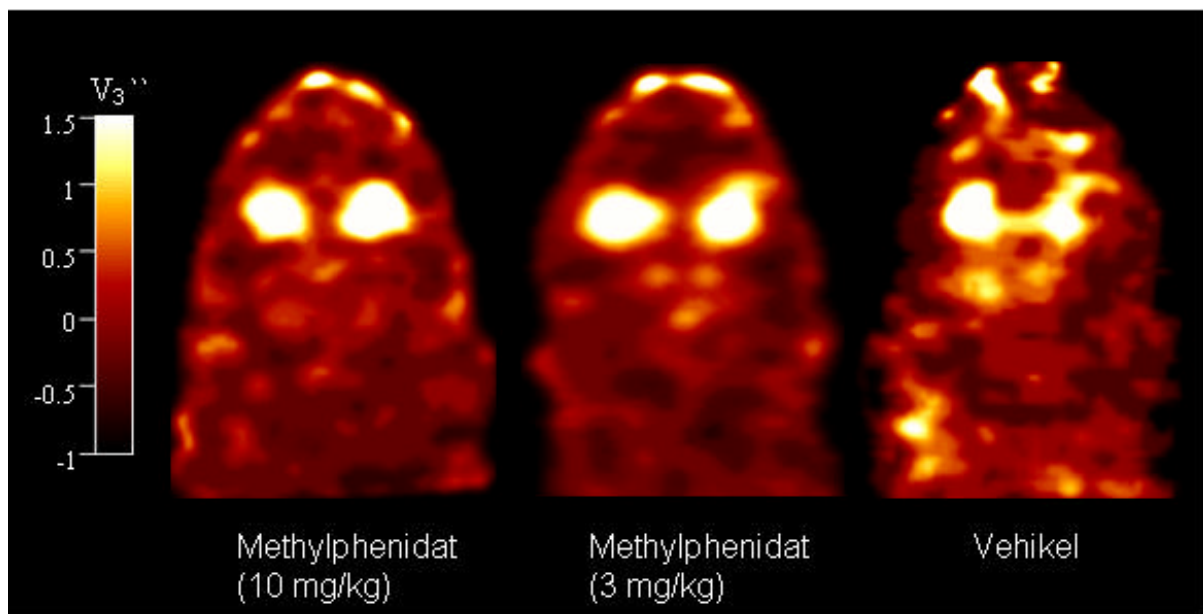


Abb. 20. [¹²³I]FP-CIT-Bindung nach Behandlung mit 10 mg/kg Methylphenidat, 3 mg/kg Methylphenidat und Vehikel (0.9% NaCl). Die Abbildungen zeigen V_3'' -Werte. Die Berechnung erfolgte mit MATLAB (Version 4.2c, The MathWorks Inc., Novi, USA). Dabei versteht sich, dass die Berechnung von V_3'' nur für Regionen wie das Striatum mit spezifischer Radioligandenbindung valide ist.

mg/kg, 10 mg/kg) und einer mit Vehikel behandelten Ratte. Sichtbar sind die Radioaktivitätsanreicherungen im Striatum der vehikelbehandelten Tiere. Nach Vorbehandlung mit beiden MP-Dosen ist die striatale [^{123}I]FP-CIT-Bindung deutlich reduziert.

Nach Vorbehandlung mit 0.9% NaCl betrugen die striatalen und kortikalen V_3'' -Werte 1.08 ± 0.43 (MW $\pm$ SD) beziehungsweise 0.30 ± 0.41 . Nach Vorbehandlung mit MP (3 mg/kg) sank der striatale V_3'' -Wert auf 0.56 ± 0.39 (t-Test, zweiseitig, $p = 0.023$). Der kortikale V_3'' -Wert betrug 0.36 ± 0.57 ($p = 0.798$). Nach Vorbehandlung mit der höheren MP-Dosis (10 mg/kg) lagen die striatalen und kortikalen V_3'' -Werte bei 0.24 ± 0.27 beziehungsweise 0.04 ± 0.29 . Der Vergleich mit der vehikelbehandelten Gruppe ergab ein $p < 0.0001$ für das Striatum, während das p für den Neokortex 0.187 betrug. Der Vergleich zwischen den beiden mit MP behandelten

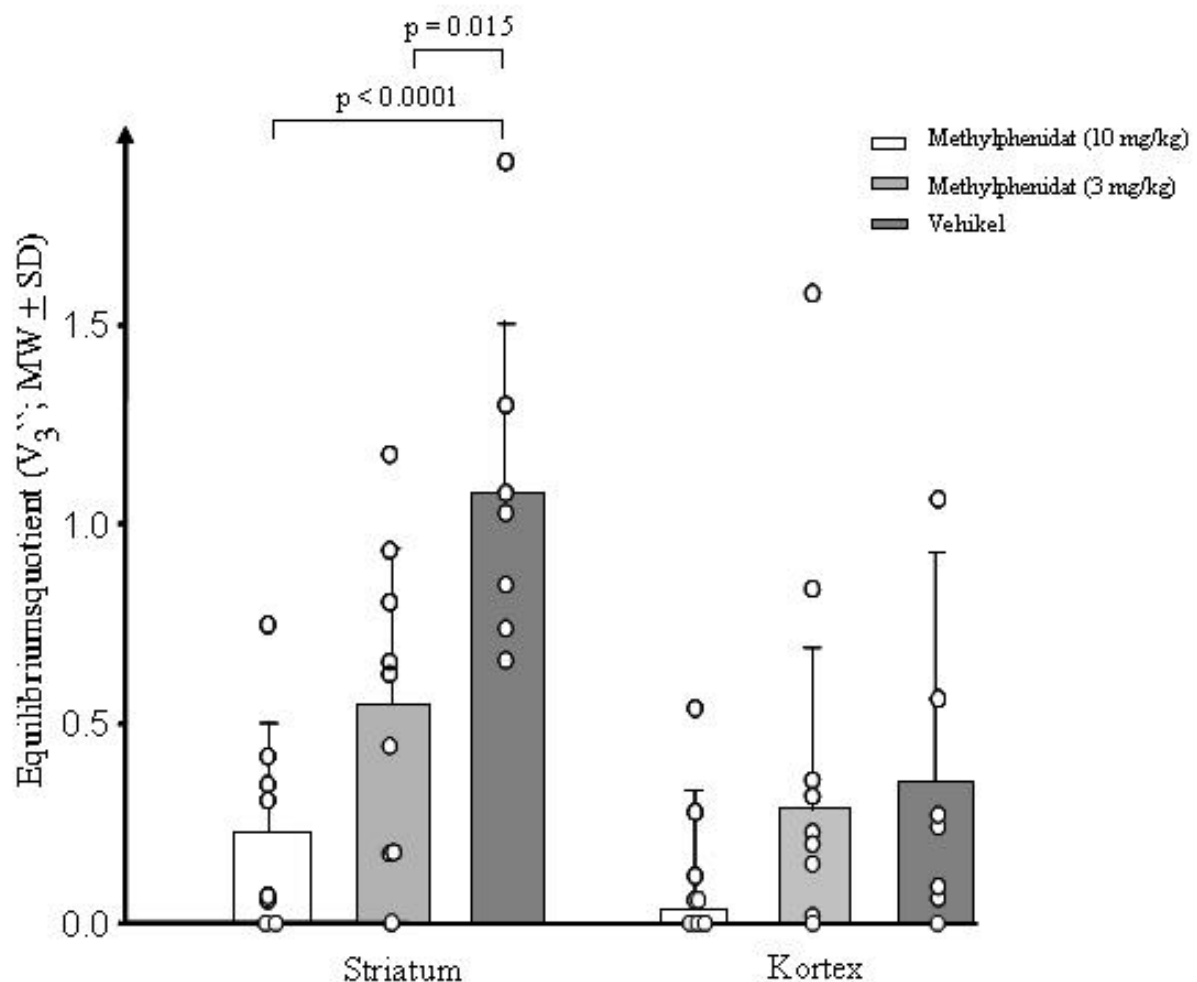


Abb. 21. Striatale und kortikale Equilibriumsquotienten (V_3'' ; [^{123}I]FP-CIT) der mit MP (3 mg/kg, $n = 9$; 10 mg/kg, $n = 8$) und Vehikel (0.9% NaCl, $n = 7$) behandelten Tieren. Wiedergegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Die Kreise repräsentieren die einzelnen Tiere. Nach Nikolaus et al., 2005a und nach Nikolaus et al., in Vorbereitung.

Gruppen ergab p-Werte von 0.07 und 0.172 für Striatum beziehungsweise Neokortex (Abb. 21).

Für Speichel- und Hardersche Drüsen betrugen die zerebellären Quotienten 4.83 ± 1.96 beziehungsweise 3.29 ± 0.81 (Vehikel), 4.39 ± 1.95 beziehungsweise 3.50 ± 0.92 (3 mg/kg MP) und 4.17 ± 1.76 beziehungsweise 3.03 ± 0.76 (10 mg/kg MP). Die t-Tests ergaben keine Unterschiede zwischen den Gruppen ($0.267 < p < 0.815$).

2.2.2.4. Diskussion

Diese erste *in vivo* Untersuchung der DAT-Bindung nach Vorbehandlung mit MP bei der Ratte zeigte eine dosisabhängige mittlere Reduktion der striatalen [^{123}I]FP-CIT-Akkumulation um ≈ 50 (3 mg/kg) beziehungsweise 80% (10 mg/kg). Im Neokortex wurden Reduktionen um ≈ 10 beziehungsweise 70% beobachtet; diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Dieses Ergebnis kann als pharmakologische Blockade interpretiert werden und zeigt, dass die DAT-Bindung *in vivo* mit dem TierSPECT und [^{123}I]FP-CIT als Radioligand quantifiziert zu werden vermag. Die Radioaktivitätsakkumulationen in den Speicheldrüsen und Harderschen Drüsen unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen; dies legt nahe, dass die [^{123}I]FP-CIT-Anreicherung in diesen Regionen unspezifisch ist und in keinerlei Zusammenhang zur DAT-Bindung steht.

Wie in der einzigen bislang mit [^{123}I]FP-CIT und einem aufgerüsteten Kleintier-SPECT durchgeführten *in vivo* Bindungsstudie von Booij und Mitarbeitern (Booij et al., 2002), konnten die Striata bei den Kontrolltieren deutlich visualisiert werden. Der mittlere striatozerebelläre Quotient liegt in der Studie von Booij und Mitarbeitern bei 3.5 und damit in der gleichen Größenordnung wie der in unserer Untersuchung ermittelte Quotient von 2.09, der einem V_3'' -Wert von 1.09 entspricht. Dieser - wenngleich verhältnismäßig geringe - Unterschied kann durch die unterschiedlichen Konstruktionsmerkmale der verwendeten Tomographen (dedizierte Kamera statt aufgerüsteter klinischer Scanner mit dickerem Kristall und Parallelloch- statt Pinhole-Kollimation) erklärt werden. Räumliche Auflösung und Sensitivität des TierSPECTs liegen für ^{123}I bei 3.4 mm beziehungsweise 16 cps/MBq (Schramm et al., 2000, Wirrwar et al., 2005a), während die aufgerüstete ADAC ARC3000-Kamera eine räumliche Auflösung von 1.3 mm und eine Sensitivität von 216 cps/MBq erreicht (Habraken et al., 2001). All dies impliziert eine

bessere Detektion striataler Signale im Vergleich zum TierSPECT, dessen FWHM bei der Verwendung ^{123}I -markierter Radiotracer den maximalen striatalen Durchmesser von $\approx 2.5\text{ mm}$ überschreitet. Der geringe Unterschied zwischen den mit beiden Scannern ermittelten striatozerebellären Quotienten legt dabei nahe, dass die geringere Sensitivität des TierSPECTs durch die im Vergleich zur Untersuchung von Booij und Mitarbeitern längeren Messzeiten (60 Projektionen mit einer Messzeit 60 s/Projektion statt 50 Projektionen mit einer Messzeit von 30 s/Projektion) bis zu einem gewissen Grade kompensiert wurde.

Die Reduktion der [^{123}I]-FP-CIT-Bindung nach Vorbehandlung mit MP bestätigt die Ergebnisse früherer Dissektionsstudien (Dresel et al., 1998, Reneman et al., 2001). Dabei unterscheidet sich jedoch das Ausmaß der induzierten Transporterblockade beträchtlich. Wir fanden eine $\approx 80\%$ ige Reduktion der striatalen und eine $\approx 70\%$ ige Reduktion der kortikalen [^{123}I]-FP-CIT-Bindung nach Applikation von 10 mg/kg Methylphenidat, während Reneman und Mitarbeiter eine $\approx 24\%$ ige Blockade der striatalen und eine $\approx 40\%$ Blockade der kortikalen [^{123}I]-FP-CIT-Bindung beobachteten (Reneman et al., 2001). Die Wirkung der niedrigeren Methylphenidatdosis (3 mg/kg) wurde dabei von Reneman und Mitarbeitern nicht untersucht; sie fanden jedoch eine $\approx 10\%$ ige Reduktion der striatalen und eine $\approx 47\%$ ige Reduktion der kortikalen [^{123}I]-FP-CIT-Bindung nach 40 mg/kg Methylphenidat (Reneman et al., 2001). Ferner beobachteten wir eine $\approx 50\%$ ige Reduktion der striatalen DAT-Bindung, während Dresel und Mitarbeiter nach der gleichen Dosis eine $\approx 80\%$ ige Reduktion fanden, jedoch [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-TRODAT statt [^{123}I]-FP-CIT als Radioligand verwendeten (Dresel et al., 1998). Dresel und Mitarbeiter applizierten nicht die 10 mg/kg-Dosis, untersuchten jedoch die [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-TRODAT-Aufnahme nach 0.35 mg/kg, 1.3 mg/kg und 1.9 mg/kg Methylphenidat, wobei Reduktionen der DAT-Bindung um ≈ 15 , 35 und 63%, beobachtet wurden (Dresel et al., 1998). In der Zusammenschau zeigt damit unsere Untersuchung wie auch die Studie von Dresel et al. eine Abnahme der DAT-Bindung bei Verabreichung ansteigender Methylphenidatdosen, während die Ergebnisse von Reneman et al. eine biphasische Dosis-Wirkungs-Beziehung nahe legen, wenn die Methylphenidatdosis 10 mg/kg übersteigt.

Die einzelnen Befunde sind dabei nicht leicht miteinander zu vergleichen, da sich die Untersuchungsbedingungen beträchtlich unterscheiden: unsere Ratten wurden nach akuter Injektion von 3 oder 10 mg/kg Methylphenidat in das Peritoneum untersucht, während Reneman und Mitarbeiter 10 oder 40 mg/kg systemisch über einen Zeitraum von vier Tagen applizierten

(Reneman et al., 2001) und Dresel und Mitarbeiter einmalige intravenöse Injektionen von 0.35 bis 3 mg/kg verabreichten (Dresel et al., 1998). Überdies berechneten wir ebenso wie Dresel und Mitarbeiter den V_3'' -Wert als Abschätzung des BPs (Dresel et al., 1998), während Reneman und Kollegen die spezifische Bindung durch einfache Subtraktion der zerebellären von den in den ROIs gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen ermittelten (Reneman et al., 2001). Infolgedessen ist es möglich, dass die [123 I]FP-CIT-Bindung im Vergleich zur Studie von Dresel und Mitarbeitern und unserer Untersuchung überschätzt wurde. Andererseits jedoch normalisierten Reneman und Kollegen die gemessenen Zählraten auf die injizierten Dosen und das Körpergewicht, worauf sowohl Dresel und Mitarbeiter als auch wir verzichteten; die mögliche Folge der nicht durchgeführten Normalisierung ist ebenfalls eine Überschätzung der Radioaktivitätskonzentrationen im Vergleich zur Untersuchung von Reneman und Mitarbeitern.

Der wesentliche Unterschied zwischen den Studien von Dresel beziehungsweise Reneman und Mitarbeitern und unserer Untersuchung bestand darin,, dass bei jenen die Gehirne der Ratten seziiert und die einzelnen Regionen im Gammazähler gemessen wurden (Dresel et al., 1998, Reneman et al., 2001), während unsere Untersuchung *in vivo* durchgeführt wurde. Vorangegangene Untersuchungen haben gezeigt, dass die Radioaktivitätskonzentrationen *in vivo* infolge des Partialvolumeneffektes unterschätzt werden können (Hume et al., 1996); ebenso sind Überschätzungen der Radioaktivitätskonzentrationen durch Spill-over aus den Harderschen Drüsen möglich (Kuge et al., 1997). Der Partialvolumeneffekt erschwert die Quantifizierung der Radioaktivitätskonzentrationen in dünnen Strukturen wie dem Neokortex und den kaudalen striatalen Anteilen, während Spill-over-Effekte vornehmlich die frontokortikalen und die rostralen striatalen Regionen betreffen. Da in unserer Studie weder eine Partialvolumen- noch eine Spill-over-Korrektur durchgeführt wurde, ist eine Konfundierung der Quantifizierung der striatalen wie auch kortikalen im Vergleich zu den zerebellären Radioaktivitätskonzentrationen möglich, da das Kleinhirn durch seine Größe und seine kaudale Lokalisierung weder von Partialvolumen- noch noch Spill-over-Effekten betroffen ist. Infolgedessen können sich die resultierenden Quotienten von den mit der Dissektionsmethode erhaltenen unterscheiden. Überdies kann die starke Abnahme der kortikalen DAT-Bindung bei den mit der höheren MP-Dosis behandelten Tieren auf den Mangel an Spill-over aus dem angrenzenden Neostriatum zurückzuführen sein und reflektiert mithin bis zu einem gewissen Grade die Abnahme der striatalen [123 I]FP-CIT-Akkumulation.

Eine Limitierung dieser Studie resultiert aus dem Umstand, dass die für die Identifikation der anatomischen Landmarken verwendeten Überlagerungsbilder mit der in das MPI-Tool implementierten Fusionsfunktion erfolgte, worauf die Bilder durch manuelle Verschiebung in x-, y- und z-Achse bestmöglich zur Deckung gebracht wurden. Beides stellt eine potentielle Fehlerquelle dar, zumal keine zusätzlichen radioaktiven Markierungen auf die Rattenköpfe aufgebracht wurden. Überdies stammten die [^{99m}Tc]DPD-, [^{99m}Tc]Tetrofosmin- und [^{99m}Tc]HMPAO-Scans von anderen Tieren als die [^{123}I]FP-CIT-Bilder. Idealerweise sollte die Bildgebung des Knochenstoffwechsels, der Perfusion und der Transporterbindung an denselben Tieren erfolgen. Da hierfür zum Zeitpunkt dieser Studie keine Tierversuchsgenehmigung vorlag, wurden Ratten des gleichen Alters und Gewichtes verwendet, um die Varianz zwischen den Versuchstieren so gering wie möglich zu halten. Überdies wurden alle Ratten in der nämlichen Kopfhaltung (Institut für Medizin, Forschungszentrum Jülich GmbH) gemessen, um die reproduzierbare Positionierung des Versuchstieres innerhalb des FOVs zu gewährleisten. Fehlermöglichkeiten bei der Positionierung der ROIs wurden ferner dadurch reduziert, dass nicht die gesamte Zielregion eingegrenzt, sondern eine verhältnismäßig kleine ROI um das - insbesondere bei den mit MP behandelten Tieren - einfacher zu lokalisierende Aktivitätsmaximum gelegt wurde. Nichtsdestotrotz bleibt festzuhalten, dass die ROI-Definition auf der Grundlage einer groben Lokalisierung von anatomischen Landmarken erfolgte; infolgedessen ist es möglich, dass weder die für die ROI-Definition ausgewählten Schichten noch die Positionen der ROIs auf denselben für alle Tiere identisch waren. Dies gilt insbesondere für die MP-behandelten Tiere, bei denen die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen signifikant reduziert waren. All dies reduziert die Vergleichbarkeit der quantitativen Daten, zumal wenn diese Dissektionsbefunden gegenübergestellt werden.

Ein bedeutender Faktor ist weiterhin die Anästhesie, die die in der Zielregion gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen unabhängig von der verwendeten Kamera beeinflussen kann. So haben Untersuchungen gezeigt, dass Ketavet und Xylazin die spezifische Bindung des SERT-Liganden [^3H](S)-Citalopram und des DAT-Liganden [^{125}I]PE2I reduzieren (Elfving et al., 2003), Ketamin allein aber die des D_2 -Rezeptorliganden [^{11}C]MSP-Bindung erhöht (Onoe et al., 1994). Da für andere Anästhetika (Isofluran, Halothan: Ishiwata et al., 1999, Elfving et al., 2003, Ma et al., 2004; Pentobarbital: Onoe et al., 1994) ähnliche Beeinflussungen der Bindung unterschiedlicher Liganden beschrieben wurden, führten wir unsere Untersuchungen

ungeachtet der beschriebenen Effekte von Ketavet und Xylazin mit diesen Substanzen als Anästhetika durch. Damit ist nicht von der Hand zu weisen, dass Ketavet/Xylazin auch in unserer Untersuchung in Analogie zur [125 I]PE2I-Bindung an den DAT zu einer Erniedrigung der [123 I]FP-CIT-Bindung im Striatum der Ratte führte. Da jedoch in allen Versuchsbedingungen die gleiche Anästhesie vorgenommen wurde, bleibt die Vergleichbarkeit der Daten über die Behandlungsgruppen hiervon unberührt.

Es ist bemerkenswert, dass die mit dem TierSPECT nachgewiesene MP-induzierte DAT-Blockade frühere *in vivo* (Volkow et al., 1998, Krause et al., 2000) und *post mortem* Befunde (Dresel et al., 1998, Reneman et al., 2001) an Menschen (Volkow et al., 1998, Krause et al., 2000) und Ratten (Dresel et al., 1998, Reneman et al., 2001) bestätigt. Darüberhinaus konnte erstmalig die Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen MP und der striatalen DAT-Blockade am lebenden Tier dargestellt werden. Die Tatsache, dass das Ausmaß der MP-induzierten DAT-Blockade in seiner Abhängigkeit von der applizierten Dosis quantifiziert werden konnte, ist dabei ein Beleg für die Zuverlässigkeit unserer *in vivo* Methode.

2.2.3. Quantifizierung der [¹²³I]IBZM-Bindung an den striatalen D₂-Rezeptor bei unbehandelten Ratten, nach pharmakologischer Blockade mit Haloperidol und nach Erhöhung der synaptischen Dopaminkonzentration⁶

2.2.3.1. Einleitung

Zahlreiche *in vivo* Humanbefunde zeigen, dass verschiedene neurologische und psychiatrische Erkrankungen mit Veränderungen der D₂-Rezeptordichte einhergehen; hierzu gehört neben der Parkinsonschen Krankheit (Hagglund et al., 1987, Rinne et al., 1990, Brücke et al., 1991, Hierholzer et al., 1992, Antonini et al., 1994, 1995, Piccini et al., 1995, Turjanski et al., 1997) vor allem die MSA (Verhoeff et al., 1990, Schwarz et al., 1992, 1983, Van Royen et al., 1993), die Schizophrenie (Wong et al., 1985, 1986, Smith et al., 1988, Farde et al., 1988, 1992, Tune et al., 1993) und die Depression (D'haenen et al., 1994, Ebert et al., 1994, Larisch et al., 1997, Volkow et al., 1997, Klimke et al., 1998).

Viele Beobachtungen legen eine Beziehung zwischen der synaptischen Neurotransmitterkonzentration und der Dichte der postsynaptischen Bindungsstellen nahe: so konnte bei Parkinsonpatienten gezeigt werden, dass die Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen zu einer Verringerung der endogenen DA-Konzentrationen führt, die ihrerseits eine kompensatorische Hochregulation der postsynaptischen D₂-Rezeptorbindungsstellen bedingen (Rinne et al., 1990). Dies gilt für die Frühphase der Erkrankung, während im fortgeschrittenen Stadium auch eine Reduktion der D₂-Rezeptoren augenfällig wird (Hierholzer et al., 1992). Ein weiteres Beispiel ist die Wirkung des synaptischen DAs auf die postsynaptische D₂-Rezeptorbindung nach Challenge mit Stimulanzien wie MP, die eine Erhöhung der DA-Konzentration im synaptischen Spalt und auf diese Weise eine Verringerung der verfügbaren D₂-Rezeptoren induzieren (Volkow et al., 1994).

Nach der in Kapitel 2.2.1. geschilderten Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte und nach 6-OHDA-induzierter Reduktion der synaptischen DA-Konzentration wenden wir uns nunmehr der Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit HAL und nach Erhöhung der

⁶ Durchführung des Experimentes: Januar 2004 – März 2004; Erstpublikation: Juni 2005 (online)

synaptischen Dopaminkonzentration mit MP zu.

HAL wurde im Jahre 1958 synthetisiert und ein Jahr später in die klinische Praxis eingeführt. Bis heute ist es die zur Behandlung von akuter wie chronischer Schizophrenie am häufigsten eingesetzte, neuroleptische Droge. HAL ist ferner bei der Behandlung von Tics, verbalen Ausbrüchen im Zuge des Gilles-de-la-Tourette-Syndroms und explosiver Übererregbarkeit indiziert und kann zudem zur Kurzzeitbehandlung hyperaktiver Kinder mit den Begleitsymptomen Unaufmerksamkeit, Impulsivität, Aggressivität, Stimmungs labilität und geringer Frustrationstoleranz eingesetzt werden.

HAL ist ein tertiäres Amin, das der Butyrophenongruppe angehört (Abb. 4). Es wird rasch absorbiert, wobei die maximale Plasmakonzentration bei gesunden Versuchspersonen nach intravenöser Gabe unmittelbar nach der Injektion erreicht wird; im Gegensatz hierzu wurde die maximale Plasmakonzentration 20 bis 40 Minuten beziehungsweise drei Stunden nach intramuskulärer und oraler Verabreichung gemessen (Forsman & Öhman, 1976, Forsman, 1976). Bei gesunden Probanden variiert die Eliminationshalbwertszeit - unabhängig von der Art der Applikation - zwischen 12 und 22 Stunden (Forsman & Öhman, 1976). Bei psychotischen Patienten wurden ähnliche Zeitpunkte der maximalen Plasmakonzentration und biologische Halbwertszeiten beobachtet (Schaffer et al., 1982, Cheng et al., 1987). Insgesamt jedoch zeigen sowohl Normalprobanden als auch psychotische Patienten hohe interindividuelle Varianzen (s. Übersichtsarbeit von Froemming et al., 1989). Die absolute Bioverfügbarkeit liegt beim Menschen zwischen 60 und 70% (Forsman & Öhmann, 1976).

HAL wird in Leber und Niere metabolisiert; dabei werden 50 bis 60% des applizierten HALs durch die Uridindiphosphat(UDP)-Glucoronosyltransferase zu HAL-Glucoronid umgesetzt und über den Urin ausgeschieden (Oida et al., 1989). Zwanzig bis 30% werden zum einen durch oxidative N-Dealkylierung in p-Fluorbenzoylpropionsäure und 4-(4-Chlorophenyl)-4-hydroxypiperidin (Soudijn et al., 1967), zum anderen durch Oxidation in den potentiell neurotoxischen Pyridiniummetaboliten 4-(4-Chlorophenyl)-1-[4-(4-fluorophenyl)-4-oxobutyl]pyridium umgesetzt. Dabei wurde von Fang und Mitarbeitern gezeigt, dass das Isoenzym Cytochrom P3A4 sowohl die N-Dealkylierung als auch die Oxidation katalysiert (Fang et al., 1997). Die restlichen 20 bis 30% werden durch die Carbonylreductase reduziert (Forsman & Larsson, 1978), wobei der entstehende Alkohol seinerseits durch Cytochrom P-Isoformen zu HAL zurückoxidiert zu werden vermag (Tyndale et al., 1991). Lediglich 1% der verabreichten

Substanz wird unverändert im Urin ausgeschieden (Forsman et al., 1974, 1977).

Neuroleptika erhöhen Synthese, Metabolismus und Freisetzung von DA im Neostriatum und verwandten mesolimbischen Strukturen (Carlsson & Lindqvist, 1963, Imperato & Di Chiara, 1985, Zetterström et al., 1984, Moghaddam & Bunney, 1990, Pehek & Yamamoto, 1994, Pehek et al., 1999, Garriss et al., 2003). Weiterhin stimulieren sie die elektrische Aktivität DAerger Neuronen (Bunney et al., 1973, Chiodo & Bunney, 1983), inhibieren die DA-sensitive AZ (Karobath et al., 1974) und blockieren durch AMPH und APO induzierte Effekte (Matthysse, 1973, Snyder et al., 1974). Durch die hohe unspezifische Membranlöslichkeit der Neuroleptika wurde die Identifikation spezifischer Bindungsstellen erschwert; im Jahre 1975 vermochten Seeman und Mitarbeiter jedoch zu zeigen, dass Neuroleptika proportional zu ihrer klinischen Wirksamkeit mit DA um stereospezifische Bindungsstellen kompetitieren (Seeman et al., 1975). In weiterführenden Studien wurde nachgewiesen, dass die antipsychotischen Effekte der Neuroleptika hoch mit einer D₂-rezeptorantagonistischen Wirkung korrelieren (Peroutka & Snyder, 1980). Dabei liegt der K_D-Wert von HAL für den D₂-Rezeptor bei 1.5 nM (Seeman et al., 1985), während der K_D-Wert für den D₁-Rezeptor 63 nM beträgt (Seeman & Grigoriadis, 1987). Darüberhinaus konnte auch eine α_1 - (K_D: 12 nM; Peroutka et al., 1977) und 5-HT₂-antagonistische Wirkung (K_D: 6 nM; Hyttel, 1983) von HAL nachgewiesen werden.

In vielen *in vivo* Humanstudien wurde die striatale D₂-Rezeptorblockade nach Behandlung mit Neuroleptika untersucht (s. Übersichtsarbeit von Nyberg et al., 1998). Bislang wurde jedoch erst eine bildgebende Untersuchung zur Wirkung von HAL auf die D₂-Rezeptorbindung bei Tieren durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein Verdrängungsexperiment an nicht-humanen Primaten, bei der HAL (0.02 mg/kg) 100 Minuten nach [¹²³I]IBZM-Applikation injiziert wurde und eine Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung um mehr als 60% hervor rief (Innis et al., 1992). Die *in vivo* Untersuchung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach Blockade des D₂-Rezeptors mit HAL im Tierversuch steht bis *dato* aus.

MP wurde im Jahre 1944 synthetisiert und ursprünglich zur Behandlung von chronischer Müdigkeit, Lethargie, Depression und Narkolepsie eingesetzt (s. Übersichtsarbeit von Leonard et al., 2004). Heutigentags beschränkt sich seine Anwendung auf die Behandlung von ADHS bei Kindern. MP ist ein piperazinsubstituiertes Phenylisopropylamin (Abb. 4), das - wie viele AMPH-Derivate - als psychomotorisches Stimulans wirkt. Es hat zwei chirale Zentren und kann

folglich in vier verschiedenen Stereoisomeren vorliegen. Da die *erythro*-Isomere nur eine geringe stimulierende Wirkung zeitigen (Szoporny & Gorog, 1961), wird beim Menschen eine racemische Mischung aus D- und L-*threo*-MP (Ritalin) eingesetzt. Dabei konnte jedoch gezeigt werden, dass die pharmakologische Aktivität vornehmlich dem D-*threo*-Enantiomer innewohnt, das nicht nur in höherem Maße lokomotorische Aktivität induziert, sondern auch eine gesteigerte Inhibierung der DA- und NA-Wiederaufnahme in striatale und hypothalamische Synaptosomen bewirkt (Patrick et al., 1987).

DL-*threo*-MP wird rasch absorbiert, wobei die maximale Plasmakonzentration 1 bis 3 Stunden nach Einnahme erreicht wird. Auch die Metabolisierung erfolgt zügig; MP wird zu 80% zu Ritalinsäure umgesetzt und über die Niere ausgeschieden (Wargin et al., 1983, Patrick et al., 1981, Aoyama et al., 1994). Ein weiterer Metabolit ist das DL-*threo*-6-Oxo-methylphenidat, das bei der Ratte zu DL-*threo*-5-Hydroxy-6-oxo-methylphenidat umgesetzt wird, jedoch in so niedrigen Konzentrationen im Gehirn nachgewiesen wurde, dass eine Mediation zentraler Effekte durch diese Substanz praktisch ausgeschlossen ist (Patrick et al., 1981).

Beim Menschen liegt die absolute Bioverfügbarkeit von DL-*threo*-MP zwischen 11 und 53% (Chan et al., 1983); auch für die Ratte wurde eine absolute Bioverfügbarkeit von nur etwa 20% nachgewiesen (Wargin et al., 1983). Dies hat seine Ursache in dem ausgeprägten präsystemischen Metabolismus von MP, infolgedessen es zu etwa der gleichen Zeit wie sein hauptsächlicher Metabolit, die Ritalinsäure, in den systemischen Kreislauf gelangt. Überdies konnte gezeigt werden, dass MP - neben dem nicht-enzymatischen Abbau zu Ritalinsäure - durch Plasma- oder Gewebeesterasen hydrolysiert zu werden vermag (Wargin et al., 1983). Dieses breite metabolische Spektrum bietet eine Erklärung für die beobachtete große inter- und intraindividuelle Variabilität hinsichtlich der MP-Konzentrationen im Plasma und der zum Erreichen der optimalen pharmakologischen Wirkung erforderlichen klinischen Dosen (Volkow et al., 1996).

MP kompetitiert mit DA um die DAT-Bindungsstellen und inhibiert die DA-Wiederaufnahme mit einer dem Kokain vergleichbaren Potenz (Gatley et al., 1996): *in vitro* wurde für MP ein K_i -Wert von 390 nachgewiesen, während der K_i -Wert von Kokain 640 nM beträgt (Ritz et al., 1987). Neben dem DAT bindet MP auch an den NET (K_i : 256 nM), während der K_i für den SERT > 10000 nM ist (Lile et al., 2003).

Verschiedene Humanuntersuchungen haben gezeigt, dass PET und SPECT eingesetzt

werden können, um aktuelle Fluktuationen in der synaptischen DA-Konzentrationen zu messen (s. Übersichtsarbeit von Laruelle, 2000). Das diesen Untersuchungen zugrundeliegende Prinzip ist die Konkurrenz zwischen endogenem DA und exogenem Radioliganden, wobei Veränderungen in der synaptischen DA-Konzentration Veränderungen in der Rezeptorbesetzung durch den exogenen Liganden zeitigen, da diesem nunmehr weniger Rezeptorbindungsstellen zur Verfügung stehen. Entsprechend zeigten Studien an nicht-humanen Primaten, dass die Depletion endogenen DAs durch Reserpin oder γ -Butyrolacton die Bindung von [^{11}C]Racloprid-Bindung an den D_2 -Rezeptor zu reduzieren vermag (Gatley et al., 1995, Ginovart et al., 1997). Umgekehrt führt die Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch elektrische Stimulation DAerger Neurone oder pharmakologische Challenge mit AMPH, GBR12909 und Kokain zu einer Reduktion der [^{11}C]Racloprid-Bindung an den D_2 -Rezeptor (Villemagne et al., 1988, Dewey et al., 1993, Carson et al., 1997, Hartvig et al., 1997, Ginovart et al., 1998, 1999, Price et al., 1998, Volkow et al., 1998, Abi-Dargham et al., 1999). Ebenso zeigten Volkow und Mitarbeiter, dass die Applikation von MP bei nicht-humanen Primaten eine Reduktion der [^{11}C]Racloprid-Bindung zu induzieren vermag (Volkow et al., 1999). Die Verabreichung einer Dosis von 0.5 mg/kg 5 Minuten vor Radioligandeninjektion führte dabei zu einer Verringerung um 32%. Geringergradige Reduktionen traten mit zunehmendem zeitlichem Abstand zwischen MP- und [^{11}C]Racloprid-Injektion auf. In weiterführenden Studien untersuchten Volkow und Mitarbeiter die Wirkung therapeutischer MP-Dosen auf die synaptischen DA-Konzentrationen beim Menschen (Volkow et al., 2001); sie bestimmten die D_2 -Rezeptorbindung eine Stunde nach oraler Verabreichung von 60 mg MP und fanden dabei eine 20%ige Reduktion des BPs. Eine spätere Studie ergab eine Reduktion des BPs um 5% nach Verabreichung einer oralen Dosis von 20 mg (Volkow et al., 2002).

In einer Untersuchung zur Beziehung zwischen der D_2 -Rezeptorbindung und Veränderungen in der synaptischen DA-Konzentration bei nicht-humanen Primaten applizierten Breier und Mitarbeiter zwei AMPH-Dosen (0.2 und 0.4 mg/kg) und beobachteten in der Folge eine mittlere Reduktion der [^{11}C]Raclopridbindung an den striatalen D_2 -Rezeptor um 10.5 beziehungsweise 20%. Zusätzliche Mikrodialysestudien zeigten, dass die Reduktion der D_2 -Rezeptorbindung von einer Zunahme der synaptischen DA-Konzentration auf das fünf- beziehungsweise fünfzehnfache der Ausgangskonzentration begleitet wurde (Breier et al., 1997). Volkow und Mitarbeiter schätzten auf der Grundlage dieser Arbeit, dass eine Änderung von

$B_{\max}/K_D$ um 1% mit einer achtfachen Zunahme der synaptischen DA-Konzentration einhergeht (Volkow et al., 2002).

Auch die indirekte Reduktion der synaptischen DA-Konzentration durch Erhöhung der GABAergen- und 5-HTergen Neurotransmission induziert bei nicht-humanen Primaten eine Zunahme der [^{11}C]Racloprid-Bindung (Dewey et al., 1992, 1995), während die indirekte Steigerung durch Applikation des NMDA-Antagonisten Ketamin eine Abnahme der [^{11}C]Racloprid-Bindung bewirkt (Ginovart et al., 1998). Studien mit dem Racloprid-Analogon [^{123}I]IBZM nach Applikation von AMPH führten zu vergleichbaren Resultaten (Innis et al., 1992, Laruelle et al., 1997). Das Nämliche gilt für andere Benzamide wie [^{123}I]IBF, [^{18}F]Fluoropropylepidrid ([^{18}F]FBP) und [^{123}I]Fallyprid (Kessler et al., 1993, Laruelle et al., 1997, Mach et al., 1997, Mukherjee et al., 1997, Price et al., 1998). Interessanterweise jedoch konnte kein Effekt von AMPH auf die [^{11}C]MSP-Bindung nachgewiesen werden (Hartvig et al., 1997). Auch die an Nagetieren durchgeführten autoradiographischen Untersuchungen liefern kontroverse Befunde: während die mit [^3H]Propylnorapomorphin ([^3H]NPA; Köhler et al., 1981, van der Werf et al., 1983, Ross & Jackson, 1989a), [^{11}C]APO (Zijlstra et al., 1993), [^3H]Racloprid (Ross & Jackson, 1989b, Seeman et al., 1990, Inoue et al., 1991, Young et al., 1991, Bischoff & Gunst, 1997, Kim et al., 1998) und [^{125}I]IBZM (Niehoff et al., 1979, Guo et al., 1999) nach Behandlung mit Reserpin, γ -Butyrolacton, α -Methylparatyrosin (AMPT), AMPH, MP und Amfolsäure durchgeführten Untersuchungen mit dem Rezeptorbesetzungsmodell konsistente Resultate ergaben, zeitigte die Inhibierung der DA-Ausschüttung in Studien mit den D_2 -Rezeptorliganden [^3H]Spiperon und [^3H]Pimozid eine paradoxe Abnahme der Radioligandenbindung. Eine ebenso paradoxe Zunahme der Radioligandenbindung rief die Steigerung der DA-Ausschüttung hervor (Baudry et al., 1977, Niehoff et al., 1979, Seeman et al., 1989, Inoue et al., 1991, Young et al., 1991, Bischoff & Gunst, 1997).

Bis zum Zeitpunkt der Planung und Durchführung dieses Experimentes war erst eine Untersuchung zur Wirkung von MP auf die D_2 -Rezeptorbindung mittels [^{123}I]IBZM durchgeführt worden (Booij et al., 1997); hierbei handelte es sich um eine Humanstudie an normalen Probanden, bei der MP (0.5 mg/kg) zwei Stunden nach [^{123}I]IBZM-Applikation infundiert wurde und eine 9%ige Reduktion der D_2 -Rezeptorbindung im Vergleich zur Baseline-Messung induzierte. Eine Untersuchung der D_2 -Rezeptorverfügbarkeit *nach* Erhöhung der endogenen DA-Konzentration in Human- oder Tierversuch stand bis *dato* aus.

In der im Folgenden dargestellten, mit dem TierSPECT durchgeführten Studie wurde das BP von [^{123}I]IBZM zunächst im Striatum der unbehandelten Ratte quantifiziert (Nikolaus et al., 2005b). Weitere Quantifizierungen der D₂-Rezeptorbindung folgten an denselben Tieren nach Vorbehandlung mit HAL und MP. Auf der Grundlage der nach MP-Challenge gemessenen D₂-Rezeptorbindung wurde eine Abschätzung der stimulanzeninduzierten Veränderung der DA-Konzentration vorgenommen.

2.2.3.2. Methode

2.2.3.2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten zehn männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 432 ± 49 g (Tierversuchsanlage, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf). Die Experimente wurden von der Bezirksregierung in Düsseldorf genehmigt und in Übereinstimmung mit den „Prinzipien der Labortierpflege“ (NIH Publikation No. 68-23, revidierte Fassung von 1985) und dem Deutschen Tierschutzgesetz in der Nuklearmedizinischen Klinik (Universitätsklinikum Düsseldorf) durchgeführt.

2.2.3.2.2. SPECT-Messungen

Bildgebung des D₂-Rezeptors. Die Ratten wurden einer Baseline-Messung der D₂-Rezeptorbindung (n = 10) und nachfolgenden Untersuchungen nach Vorbehandlung mit HAL (n = 10), MP (n = 9) und Ethanol (ETH; n = 4) unterzogen. Dabei wurden die Vorbehandlungen mit HAL und MP in randomisierter Reihenfolge vorgenommen; zwischen den Untersuchungen lagen 11 ± 5 Tage. Für die Baseline-Messungen wurden die Tiere kurzzeitig mit Isolfluram (Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, BRD) anästhesiert und erhielten Injektionen von Ketaminhydrochlorid (Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen, BRD; Konzentration: 100 mg/ml, Dosis 0.9 ml/kg) und Xylazinhydrochlorid (Rompun®, Bayer, Leverkusen, BRD; Konzentration: 0.02 mg/ml, Dosis: 0.4 mg/kg) in das Peritoneum injiziert. [^{123}I]IBZM (Amersham Buchler, Braunschweig, BRD; 24 ± 4 MBq; Konzentration: 3.4×10^{-9} g/ml, spezifische Aktivität: > 74 TBq/mmol) wurde den Tieren mit Hilfe eines Butterflys in die laterale Schwanzvene appliziert. Der Schlauch des Butterflys wurde mit 1 ml 0.9% NaCl gespült, so dass das gesamte

Injektionsvolumen 1.3 ml betrug. In den nachfolgenden Experimenten wurde den Ratten 1 Stunde vor [^{123}I]IBZM-Injektion entweder 1 mg/kg HAL (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, BRD; Konzentration: 1 mg/ml, Vehikel: 100% ETH), 10 mg/kg MP (Medikinet®, zur Verfügung gestellt von Medice GmbH & Co.KG, Iserlohn, BRD; Konzentration: 10 mg/ml, Vehikel: 0.9% NaCl) oder 1 ml/kg ETH (Konzentration: 100 mg/ml) in das Peritoneum appliziert.

Da vorausgegangene Messungen am Menschen gezeigt haben, dass die spezifische Bindung von [^{123}I]IBZM 40 Minuten nach Injektion ein Plateau erreicht, das bis zu zwei Stunden lang stabil bleibt (Verhoeff et al., 1991b, Seibyl et al., 1992), wurden die TierSPECT-Messungen 45 Minuten nach Radioligandenapplikation durchgeführt. Die Datenakquisition erfolgte in Winkelschritten von 6° (60 Projektionen, 60 s/Projektion) mit einem Rotationsradius von 65 mm. Das Energiefenster wurde auf den Gamma-Photopeak von ^{123}I ($150 \text{ keV} \pm 15\%$) eingestellt.

Datenanalyse. Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem MPI-Tool (Advanced Tomo Vision, Erftstadt, BRD). Wie die in Kapitel 2.1.3. dargestellte Untersuchung veranschaulicht, sind die Basalganglien nach Vorbehandlung mit HAL und MP infolge der reduzierten D_2 -Rezeptorbindung schwierig zu lokalisieren (Abb. 15); dies gilt auch für das Kleinhirn, das durch eine niedrige D_2 -Rezeptordichte gekennzeichnet ist. Aus diesem Grund wurde ein [^{123}I]IBZM mit einem [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD-Scan überlagert (Abb. 22A) und auf dem Fusionsbild ein ROI-Template mit striatalen, kortikalen und zerebellären ROIs definiert, die kreisförmige (Striatum) oder ellipsoide (Neokortex, Zerebellum) Flächen mit einer Größe von 1.5, 1.8 beziehungsweise 7 mm^2 umschrieben und über dem Aktivitätsmaximum der jeweiligen Strukturen platziert wurden (Abb. 21A). Dieses Template wurde jeweils auf die Bilder der HAL-, MP- und ETH-behandelten Ratten übertragen, wobei die einzelnen ROIs ohne Veränderung ihres Umrisses oder ihrer Größe über die jeweiligen Aktivitätsmaxima gelegt wurden.

Da auch die Harderschen Drüsen und die Speicheldrüsen durch eine ausgeprägte Radioaktivitätsakkumulation gekennzeichnet sind, wurden auch innerhalb dieser Strukturen auf transversalen beziehungsweise sagittalen Bildern ROIs (Fläche: 1.5 mm^2) definiert. Dabei ist bei der räumlichen Auflösung des TierSPECTS keine Differenzierung zwischen den Radioaktivitätsanreicherungen in den paarigen Speicheldrüsen, die sich über den gesamten ventralen Halsbereich ausdehnen und den dorsal von ihnen gelegenen Schilddrüsen möglich, die lediglich 1 mm lang sind und beiden Seiten der Trachea anliegen.

Bestimmung von V_3 ''. Bei der Beschreibung des kinetischen Verhaltens von [^{123}I]IBZM

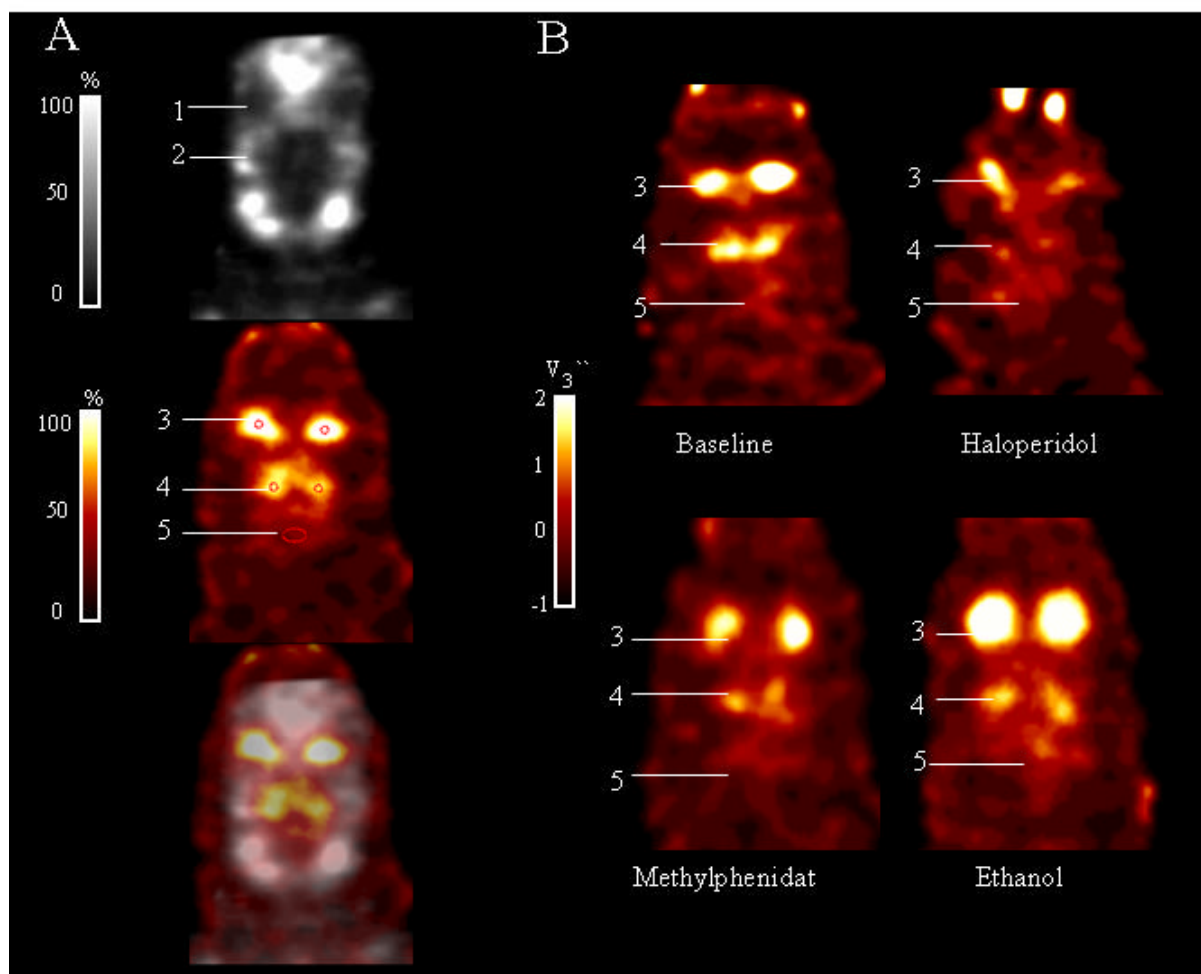


Abb. 22. (A) Identifikation des Striatums und des Zerebellums bei der Ratte nach $[^{123}\text{I}]\text{IBZM}$ -Applikation. Die Abbildung zeigt einen $[^{99m}\text{Tc}]\text{DPD}$ -Scan (oben), einen $[^{123}\text{I}]\text{IBZM}$ -Scan (Mitte) und die Überlagerung beider Bilder (unten). Das Fusionsbild erlaubt die Identifikation des Striatums (4) und des Zerebellums (5) relativ zu Orbitae (1) und Schädelhöhle (2). 3, Hardersche Drüse. (B) Charakteristischer Koronarschnitt des Rattenkopfes in Baseline (links oben) und nach Vorbehandlung mit HAL (rechts oben), MP (links unten) und ETH (rechts unten). 3, Hardersche Drüse, 4, Striatum, 5, Zerebellum. Nach Vorbehandlung mit HAL und MP sind die $[^{123}\text{I}]\text{IBZM}$ -Anreicherungen deutlich reduziert. Die Abbildungen zeigen V_3'' -Werte. Die Berechnung erfolgte mit MATLAB (Version 4.2c, The MathWorks Inc., Novi, USA). Dabei versteht sich, dass die Berechnung von V_3'' nur für Regionen wie das Striatum mit spezifischer Radioligandenbindung valide ist. Die abgebildete Ratte zeigte V_3'' -Werte von 1.96 (Baseline), 0.77 (HAL), 1.21 (MP) und 1.26 (ETH). Nikolaus et al., 2005b.

kann man von einem Drei-Kompartiment-Modell mit einem Blutplasma- (C_1) und zwei Gewebekompartimenten C_2 und C_3 ausgehen, die die arteriellen, freien plus nicht-spezifisch gebundenen und spezifisch gebundenen Radioligandenkonzentrationen bezeichnen. Für die exakte Bestimmung des BPs ist die Messung der nicht-metabolisierten und nicht an Proteine gebundenen Fraktionen in C_1 erforderlich; sind diese Werte nicht verfügbar, müssen

Abschätzungen des BPs vorgenommen werden. Dies kann durch die Bestimmung von V_3'' erfolgen. Sind die Gleichgewichtskonzentrationen des freien und des nicht-spezifisch gebundenen Liganden in allen Gehirnregionen gleich, ergibt sich V_3'' aus $V_T(\text{ROI})/V_T(\text{REF})-1$ (Laruelle et al., 1994). Dieses semiquantitative Maß hängt mit BP wie folgt zusammen; $V_3'' = V_3/V_2 = \text{BP}/V_2 = B_{\text{max}}/V_2 K_D = k_3/k_4$ (s. Übersichtsarbeit von Ichise et al., 2001).

Auswertung. Die striatalen V_3'' -Werte wurden für die einzelnen Bedingungen (Baseline, HAL, MP, ETH) aus den Radioaktivitätskonzentrationen (Counts/mm³) in ROIs und zerebellärer REF berechnet. Linke und rechte striatale Radioaktivitätskonzentrationen wurden für jedes Tier gemittelt. Für jede Behandlungsbedingung wurden die Daten mit dem nicht-parametrischen Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet ($0.754 < p < 0.981$). Die Zählrate in Speicheldrüse und Harderschen Drüsen wurden auf das Kleinhirn normiert; auch diese Quotienten erwiesen sich als normalverteilt ($0.424 < p < 1$).

Unsere Abschätzung der MP-induzierten Veränderung der synaptischen DA-Konzentration beruht auf folgender Überlegung: bei Annahme einer gleichen Affinität von exogenem und endogenem Liganden für den D₂-Rezeptor liegt einer Reduktion der exogenen Ligandenbindung um einen beliebigen Prozentsatz eine Erhöhung der endogenen Ligandenbindung um den gleichen Prozentsatz zugrunde. Wenn sich jedoch die Affinitäten unterscheiden, muss dieser Unterschied in die Berechnung eingehen. Da die D₂-Rezeptoraffinität $K (= 1/K_d)$ des endogenen Liganden DA ($K_D = 7.5 \text{ nM}$, $K_{\text{endo}} = 0.13 \text{ nM}^{-1}$; s. Übersichtsarbeit von Seeman & Grigoriadis, 1987) diejenige des exogenen Liganden [¹²³I]IBZM ($K_D = 0.28 \text{ nM}$, Verhoeff et al., 1991b; $K_D = 1.2 \text{ nM}$, de Paulis et al., 1988; MW: 0.74 nM , $K_{\text{exo}} = 1.35 \text{ nM}^{-1}$) um einen Faktor 10 unterschreitet, multiplizierten wir für jedes Tier die prozentuale Abnahme der exogenen Ligandenbindung mit diesem Faktor ($K_{\text{exo}}/K_{\text{endo}}$), um einen Schätzwert für die Erhöhung der endogenen Ligandenkonzentration zu erhalten.

Für jede Bedingung wurden MWs und SDs berechnet. Die striatalen V_3'' -Werte und die glandulären Quotienten wurden mit dem paarigen t-Test (zweiseitig, $\alpha = 0.05$) zwischen den Behandlungsbedingungen verglichen (Baseline vs HAL: $n = 10$; Baseline vs MP: $n = 9$; Baseline vs ETH: $n = 4$; HAL vs MP: $n = 9$; HAL vs ETH: $n = 4$; MP vs ETH: $n = 4$). Für multiple Vergleiche wurde nicht korrigiert.

2.2.3.3. Ergebnisse

Abb. 22B zeigt die charakteristischen intra- und extrazerebralen Anreicherungen von [^{123}I]IBZM unter Baseline-Bedingungen (links oben) auf einem Koronalschnitt durch den Rattenkopf. Deutlich sichtbar ist die [^{123}I]IBZM-Akkumulation im paarigen Striatum und in den rostral gelegenen Hadderschen Drüsen. Die folgenden Bilder zeigen die [^{123}I]IBZM-Anreicherung nach Vorbehandlung mit HAL (rechts oben), MP (links unten) und ETH (rechts unten). Dabei ist die [^{123}I]IBZM-Bindung an den D₂-Rezeptor nach Vorbehandlung mit sowohl HAL als auch MP deutlich reduziert.

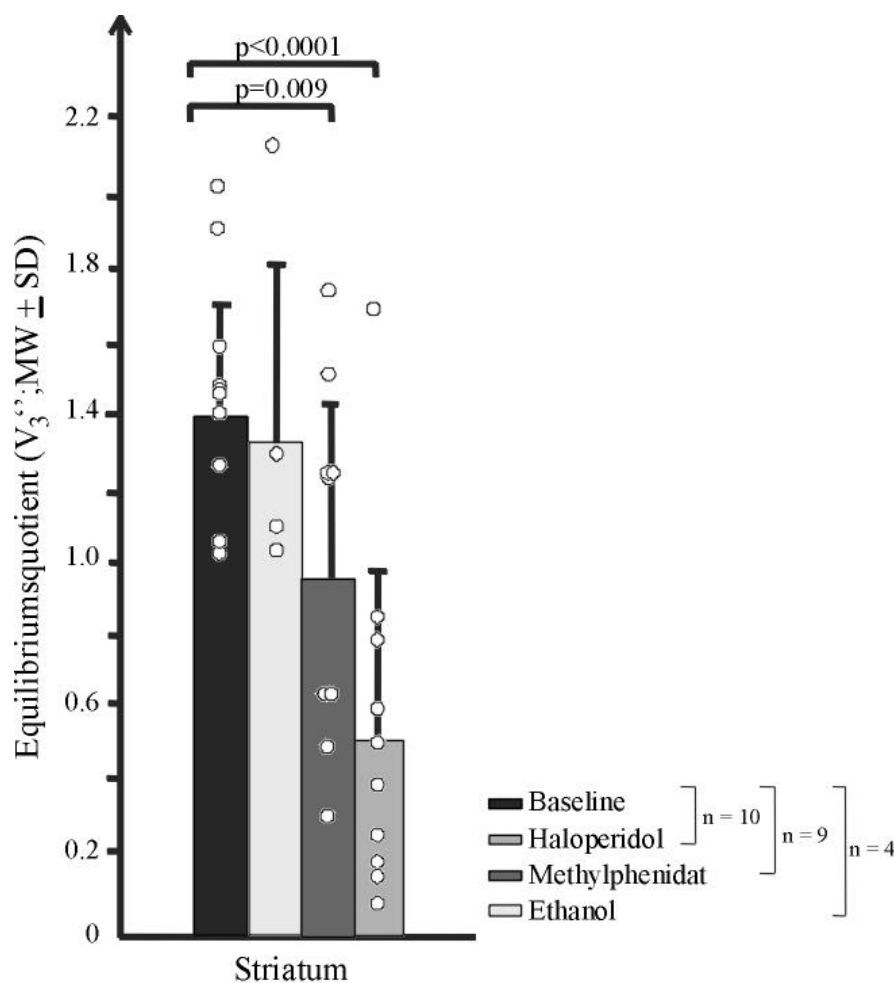


Abb. 23. Striatale Equilibriumsquotienten (V_3'' ; [^{123}I]IBZM) in Baseline und nach Vorbehandlung mit HAL (1 mg/kg), MP (10 mg/kg) und ETH. Wiedergegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Die Kreise repräsentieren die einzelnen Tiere. Nikolaus et al., 2005b.

In der Baseline-Bedingung und nach Vorbehandlung mit ETH betrugen die striatalen V_3'' -Werte 1.42 ± 0.31 (MW $\pm$ SD) beziehungsweise 1.35 ± 0.49 (paariger t-Test, zweiseitig, $p = 0.205$; Abb. 23). Nach Vorbehandlung mit HAL und MP sanken die V_3'' -Werte auf 0.54 ± 0.46 beziehungsweise 0.98 ± 0.48 . Die Unterschiede zu den V_3'' -Werten der Baseline-Bedingung waren signifikant (HAL, $p < 0.0001$; MP, $p = 0.009$). Dies galt ebenso für den Unterschied zwischen den V_3'' -Werten nach Vorbehandlung mit HAL und MP ($p = 0.002$). Ferner war der Unterschied zwischen den V_3'' -Werten nach Vorbehandlung mit HAL und ETH signifikant ($p = 0.011$). Der Vergleich der V_3'' -Werte nach Vorbehandlung mit MP und ETH ergab einen p-Wert von 0.062.

Die striatalen V_3'' -Werte nach Vorbehandlung mit MP waren gegenüber der Baseline-Bedingung um $33.17 \pm 31.75\%$ reduziert. Dabei ergaben sich für die einzelnen Tiere Reduktionen der V_3'' -Werte um 5 bis 79%. Bei einer Ratte war V_3'' gegenüber der Baseline-Bedingung um 15% erhöht. Unsere Abschätzung ergab, dass die Reduktion der [123 I]IBZM-Bindung mit einer durchschnittlichen Zunahme der synaptischen DA-Konzentration um das Dreifache (auf $331.72 \pm 317.54\%$ der Ausgangskonzentration) einherging. Nach Ausschluss der Ratte, die eine Zunahme der [123 I]IBZM-Bindung nach Challenge mit MP zeigte, betrug die prozentuale Reduktion der [123 I]IBZM-Bindung relativ zur Baseline $39.26 \pm 27.77\%$. Der Faktor für die Zunahme der synaptischen DA-Konzentration lag nunmehr bei durchschnittlich 4 (auf $392.60 \pm 277.69\%$ der Ausgangskonzentration), während sich für die einzelnen Tiere Faktoren zwischen 0.5 und 8 ergaben.

Für Speicheldrüse und Hardersche Drüsen ergaben sich zerebelläre Quotienten von 3.87 ± 1.95 und 3.43 ± 0.97 (Baseline), 4.40 ± 2.68 und 3.33 ± 0.46 (Vorbehandlung mit HAL), 3.41 ± 1.78 und 2.67 ± 0.70 (Vorbehandlung mit MP) beziehungsweise 2.67 ± 0.79 und 3.17 ± 1.39 (Vorbehandlung mit ETH). Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsbedingungen (paariger t-Test, zweiseitig, $0.09 < p < 0.88$).

2.2.3.4. Diskussion

Dies war die erste *in vivo* Studie, in der die D_2 -Rezeptorverfügbarkeit bei der Ratte durch Bestimmung der [123 I]IBZM-Bindung in Konkurrenz mit exogenen und endogenen Liganden

untersucht wurde. Dabei führte die Vorbehandlung mit HAL und MP zu einer Reduktion des V_3' -Wertes um ~ 60 beziehungsweise $\sim 30\%$. ETH übte keinen signifikanten Effekt auf die striatale D_2 -Rezeptorbindung aus. Da die Bestimmung der D_2 -Rezeptorbindung nach Vorbehandlung mit ETH als Letztes durchgeführt wurde, zeigt die Übereinstimmung mit den Baseline-Werten, dass die experimentelle Prozedur (wiederholte Langzeitanästhesie, wiederholte [123 I]IBZM-Applikation etc.) keine negative Wirkung auf die Bindungseigenschaften der D_2 -Rezeptoren ausübte. Die Radioaktivitätsanreicherungen in Speicheldrüsen und Harderschen Drüsen unterschieden sich nicht zwischen den Behandlungsbedingungen; dies legt nahe, dass die [123 I]IBZM-Anreicherungen in diesen Regionen unspezifisch sind und in keinerlei Zusammenhang mit der D_2 -Rezeptorbindung stehen.

Bislang wurde keine *in vivo* Untersuchung der D_2 -Rezeptorbindung bei der Ratte nach HAL- oder MP-Challenge mit [123 I]IBZM als Radioligand durchgeführt. Innis und Mitarbeiter verwendeten zwar HAL (0.02 mg/kg) und [123 I]IBZM, führten ihre Untersuchungen aber als Verdrängungsexperiment an nicht-humanen Primaten durch (Innis et al., 1992), während Booij und Mitarbeiter die Verdrängung von [123 I]IBZM durch endogenes DA nach Infusion von MP (0.5 mg/kg) beim Menschen untersuchten (Booij et al., 1997). Ihre Befunde entsprechen insofern unseren eigenen Ergebnissen, als beide Studien eine durch HAL beziehungsweise MP induzierte Reduktion der [123 I]IBZM-Bindung zeigen. Der Vergleich dieser Studien mit unserer Untersuchung wird jedoch durch die Unterschiede in der experimentellen Vorgehensweise (Verdrängung statt D_2 -Rezeptorblockade, Infusions- statt Einzel-Bolus-Paradigma) und die wesentlich niedrigeren HAL- (0.02 mg/kg statt 1 mg/kg) und MP-Dosen (0.3 mg/kg statt 10 mg/kg) erschwert.

Die Reduktion der [123 I]IBZM-Bindung an die striatalen D_2 -Rezeptoren nach Vorbehandlung mit HAL kann als D_2 -Rezeptorblockade interpretiert werden. Die Affinität von HAL für den D_2 -Rezeptor der Ratte ($K_D = 1.5$ nM; s. Übersichtsarbeit von Seeman & Grigoriadis, 1987) liegt im Bereich der für IBZM ($K_D=0.28$ nM, Verhoeff et al., 1991b; $K_D = 1.2$ nM, de Paulis et al., 1988) berichteten Werte; eine folgerichtige Interpretation der Daten ist daher, dass die Reduktion der [123 I]IBZM-Bindung die Konkurrenz zwischen beiden exogenen Liganden anzeigt. Die Sachlage wird jedoch durch kontroverse Befunde hinsichtlich der synaptischen Wirkmechanismen von HAL kompliziert: so zeigten sowohl Mikrodialyse- (Moghaddam & Bunney, 1990, Pehek & Yamaoto, 1994, Pehek et al., 1999) als auch PET-

Studien (Ishizu et al., 2000), dass HAL die extrazellulären DA-Konzentration akut zu erhöhen vermag. Dieser Effekt wird durch die Bindung von HAL an die präsynaptischen D₂-Autorezeptoren mediert, die einen Verlust an negativer Feedback-Kontrolle induziert (Westerink & de Vries, 1989). Mithin kompetitiert HAL nicht nur mit [¹²³I]IBZM um die D₂-Rezeptorbindungsstellen, sondern erhöht in einem gewissen Ausmaß auch die Konkurrenz zwischen [¹²³I]IBZM und endogenem DA. Die HAL-induzierte Zunahme der synaptischen DA-Konzentration wird Gegenstand der im nächsten Kapitel vorgestellten Untersuchung sein.

MP blockiert den präsynaptischen DAT und induziert auf diese Weise eine Zunahme der synaptischen DA-Konzentration (s. Übersichtsarbeit von Volkow et al., 2002). Folglich kann die Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung an den striatalen D₂-Rezeptor als Ergebnis der Konkurrenz zwischen [¹²³I]IBZM und endogenem DA interpretiert werden. Dabei muss jedoch in Betracht gezogen werden, dass der K_D-Wert von [¹²³I]IBZM für den D₂-Rezeptor (K_D=0.28 nM, Verhoeff et al., 1991b; K_D = 1.2 nM, de Paulis et al., 1988) den K_D-Wert von DA (K_D = 7.5 nM, s. Übersichtsarbeit von Seeman & Grigoriadis, 1987) um eine Größenordnung unterschreitet. Aufgrund dieses Unterschiedes in den Affinitäten ist ein komplexer Zusammenhang zwischen der MP-induzierten Zunahme der synaptischen DA-Konzentration und der Reduktion der D₂-Rezeptorbindung zu erwarten.

Wir nahmen eine Abschätzung für die MP-induzierte Zunahme der synaptischen DA-Konzentration vor, indem wir die prozentuale Abnahme der exogenen Ligandenbindung mit dem Quotienten der Rezeptoraffinitäten (K_{exo}/K_{endo}) multiplizierten. Dabei ergab sich, dass die Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung mit einer durchschnittlichen Zunahme der synaptischen DA-Konzentration um das Dreifache einherging. Hierbei bedarf es jedoch der Erwähnung, dass die Ratten hinsichtlich der prozentualen Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung relativ zur Baseline deutliche interindividuelle Unterschiede aufwiesen. Wie in Kapitel 2.2.2.1. ausgeführt, trägt hierzu der ausgeprägte präsystemische Metabolismus von MP und die große Anzahl möglicher Stoffwechselreaktionen bei, die zu einer großen inter- und intraindividuelle Variabilität hinsichtlich der MP-Konzentrationen im Plasma und der zum Erreichen der optimalen pharmakologischen Wirkung erforderlichen klinischen Dosen führen (Volkow et al., 1996).

In unserer Untersuchung ergaben sich für die einzelnen Tiere Reduktionen der V₃''-Werte um 5 bis 79%, während bei einer Ratte V₃'' gegenüber der Baseline-Bedingung um 15% erhöht war; im Mittel ergab dies eine durchschnittliche Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung ~ 30% mit

einer ebenso hohen Standardabweichung. Nach Ausschluss der Ratte, die eine Zunahme der [¹²³I]IBZM-Bindung zeigte, betrug die prozentuale Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung relativ zur Baseline ~ 40%. Der Faktor für die Zunahme der synaptischen DA-Konzentration lag nunmehr bei durchschnittlich 4, während sich für die einzelnen Tiere Faktoren zwischen 0.5 und 8 ergaben.

In ihrer Anfang 2006 veröffentlichten Studie untersuchten Schiffer und Mitarbeiter die Effekte von MP auf die „extrazelluläre“ und auf die „synaptische“ DA-Konzentration im Striatum der Ratte. Dabei gingen sie von der Annahme aus, dass die Messung der D₂-Rezeptorbindung vor und nach pharmakologischer Challenge eine (indirekte) Aussage über die Veränderung der DA-Konzentration im „synaptischen Kompartiment“ ermöglicht, während durch die Mikrodialyse sonde unmittelbar die DA-Konzentrationen im „extrazellulären Kompartiment“ abgegriffen wird (Schiffer et al., 2006). Die PET-Untersuchungen mit [¹¹C]Racloprid zeigten nach Behandlung mit MP (5 mg/kg) eine Reduktion der striatalen D₂-Rezeptorbindung um 21%; zusätzlich durchgeführte *in vivo* Mikrodialysestudien ergaben eine mittlere Zunahme der extrazellulären DA-Konzentration um 360%. Dies stellt sowohl qualitativ als auch quantitativ eine Bestätigung unserer Befunde dar.

Schiffer und Mitarbeiter postulieren, dass die pharmakologisch induzierten Veränderungen der extrazellulären DA-Konzentration quantitativ nicht in jedem Falle exakt mit den Veränderungen der synaptischen DA-Konzentration übereinstimmen (Schiffer et al., 2006). Dem liegt die Annahme zugrunde, dass bei Substanzen wie AMPH, die über DAT-medierte Mechanismen aktiv die Freisetzung von DA aus den präsynaptischen Vesikeln induzieren, extrazelluläre DA-Konzentrationen erreicht werden können, die die synaptischen um ein Vielfaches übersteigen. Bei Substanzen wie MP jedoch, die die Wiederaufnahme passiv freigesetzten DAs inhibieren, ist ein Konzentrationsausgleich durch die Diffusion von DA vom „synaptischen“ in das „extrazelluläre Kompartiment“ möglich (Seeman & Madras, 1998). Damit kann nach Gabe von MP in höherem Ausmaß als nach AMPH-Verabreichung von der synaptischen auf die extrazelluläre DA-Konzentration und *vice versa* geschlossen werden. Dies belegt der Befund von Schiffer und Mitarbeitern, der eine ähnliche Beeinflussung der synaptischen DA-Konzentration durch AMPH und MP, jedoch eine vierfach höhere Zunahme der extrazellulären DA-Konzentration nach Vorbehandlung mit AMPH ausweist (Schiffer et al., 2006).

In unserer Untersuchung wurde das Einzel-Bolus- anstelle des von sowohl Innis als auch Booij und Mitarbeitern gewählten Infusionsparadigmas (Innis et al., 1992, Booij et al., 1997) angewendet. Letztere Methode gestattet im Gegensatz zum Einzel-Bolus-Paradigma die direkte Bestimmung von Qualität, Quantität und Zeitverlauf der durch eine pharmakologische Challenge induzierten Veränderungen. Da jedoch in den Studien von Innis sowie Booij und Mitarbeitern Paviane beziehungsweise Menschen untersucht wurden, konnten diese Experimente mit konventionellen klinischen SPECT-Kameras durchgeführt werden, die die Akquisition quasidynamischer Zählraten erlauben. In unserer an Ratten durchgeführten Studie verwendeten wir eine dedizierte Kleintierkamera, die den Vorteil einer höheren räumlichen Auflösung hat, jedoch die nachteilige Eigenschaft einer niedrigen Sensitivität mit sich bringt. Dieses Charakteristikum ist den meisten Kleintier-Scannern einschließlich der aufgerüsteten klinischen Kameras (s. Tab. II und III im Anhang) gemeinsam und eine Folge der Verwendung dünner Kristalle und Pin- oder Parallellochkollimatoren kleinen Lochdurchmessers. Infolgedessen sind bei der Durchführung von Kleintier-SPECT-Studien in der Regel lange Aufnahmezeiten erforderlich, die die Akquisition hinreichend hoher Zählraten ermöglichen. Aus diesem Grunde wird in Kleintier-SPECT-Untersuchungen gemeinhin das Einzel-Bolus-Paradigma angewendet (Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, Nikolaus et al., 2005). Eine Ausnahme stellen die Mäusestudien von Acton und Mitarbeitern dar, denen die Verwendung einer konventionellen Dreikopfkamera eine quasidynamische Datenakquisition und damit die Anwendung eines Infusionsparadigmas erlaubte (Acton et al., 2002a, b).

In allen bildgebenden Studien an Kleintieren, die unter Anwendung des Einzel-Bolus-Paradigmas durchgeführt wurden, wurden aus den regionalen, unter Equilibriumsbedingungen gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen striatozerebelläre Quotienten (Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002; s. auch Kapitel 2.1.3.) oder V_3'' -Werte (s. Kapitel 2.2.2.) oder V_3'' -Werte berechnet, die reliable Abschätzungen des BPs darstellen (s. Übersichtsarbeit von Ichise et al., 2001). Dies gilt für die Abschätzung von Veränderungen der Rezeptorparameter, die durch eine pharmakologische Challenge induziert wurden jedoch nur unter der Voraussetzung, dass die Challenge keine Wirkung auf das Verteilungsvolumen des nicht-spezifischen Kompartimentes (V_2) ausübt. Gilt diese Annahme nicht, werden durch pharmakologische Challenge induzierte Veränderungen im zerebellären Verteilungsvolumen des Radiotracers gemessen (Dewey et al., 1993). Wird f_1 nicht bestimmt, ist es unmöglich zu entscheiden, ob dieselben auf eine

Veränderung der nicht-spezifischen Bindung im Plasma ($1/f_1$) oder im Zerebellum selbst ($1/f_2$) zurückzuführen sind. Unter diesen Bedingungen kann V_3 nicht als Maß für die Rezeptorbindung abgeleitet werden. Die Bestimmung von V_3' kontrolliert für Veränderungen in f_2 , da V_2 nicht in diesen Wert eingeht; jedoch wird das Ergebnis verfälscht, wenn durch die pharmakologische Intervention Veränderungen in f_1 induziert werden. V_3'' kontrolliert im Gegensatz hierzu für Veränderungen in f_1 , da sich f_1 im Quotienten V_3/V_2 herauskürzt, führt aber zu Verfälschungen, wenn Veränderungen in f_2 vorliegen. Dies ist im Falle von MP unwahrscheinlich (Volkow et al., 1998); es bleibt aber nichtsdestoweniger festzuhalten, dass in Ermangelung der Bestimmung von f_1 nicht für den potentiellen Einfluss einer pharmakologischen Intervention auf die nicht-spezifische Bindung in Plasma und Gehirn kontrolliert werden kann.

Ein Faktor von zu nicht zu unterschätzender Bedeutung ist die Anästhesie, die die in der Zielregion gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen unabhängig von der verwendeten Kamera beeinflussen kann. So haben Untersuchungen gezeigt, dass Ketavet und Xylazin die spezifische Bindung des SERT-Liganden [^3H](S)-Citalopram und des DAT-Liganden [^{125}I]PE2I reduzieren (Elfving et al., 2003), Ketamin allein aber die des D_2 -Rezeptorliganden [^{11}C]MSP-Bindung erhöht (Onoe et al., 1994). Da für andere Anästhetika (Isofluran, Halothan: Ishiwata et al., 1999, Elfving et al., 2003, Ma et al., 2004; Pentobarbital: Onoe et al., 1994) ähnliche Beeinflussungen der Bindung unterschiedlicher Liganden beschrieben wurden, führten wir unsere Untersuchungen ungeachtet der beschriebenen Effekte von Ketavet und Xylazin mit diesen Substanzen als Anästhetika durch. Damit ist nicht von der Hand zu weisen, dass Ketavet/Xylazin auch in unserer Untersuchung in Analogie zur [^{11}C]MSP-Bindung an den D_2 -Rezeptor zu einer Erhöhung der [^{123}I]IBZM-Bindung im Striatum der Ratte führte. Da jedoch in allen Versuchsbedingungen die gleiche Anästhesie vorgenommen wurde, bleibt die Vergleichbarkeit der Daten über die Behandlungsgruppen hiervon unberührt.

Eine Limitierung unserer Studie resultiert hingegen aus dem Umstand, dass die für die Identifikation der anatomischen Landmarken verwendeten Überlagerungsbilder mit der in das MPI-Tool implementierten Fusionsfunktion erfolgte, worauf die Bilder durch manuelle Verschiebung in x-, y- und z-Achse bestmöglich zur Deckung gebracht wurden. Beides stellt eine potentielle Fehlerquelle dar, zumal keine zusätzlichen Markierungen auf die Rattenköpfe aufgebracht wurden. Überdies stammte der [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD-Scan von einem anderen Tier als die [^{123}I]IBZM-Bilder, während die Bildgebung des Knochenstoffwechsels idealerweise an denselben

Tieren wie die Rezeptorbildgebung erfolgen sollte. Da die ROI-Definition auf einer groben Lokalisierung anatomischer Landmarken basierte, ist nicht auszuschließen, dass weder die für die ROI-Definition ausgewählten Schichten noch die Positionen derselben für alle Tiere identisch waren. Dies gilt insbesondere für die SPECT-Messungen nach Vorbehandlung mit HAL oder MP, da die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen in diesen Fällen erheblich reduziert waren, was zu einer deutlich Erschwerung der ROI-Definition führte (Abb. 15, 20 und 22). Infolgedessen ist nicht von der Hand zu weisen, dass Fehler in der Positionierung von ROI oder REF zu Konfundierungen bei der Quantifizierung von V_3 geführt haben. Weitere Fehlerquellen resultieren möglicherweise aus Partialvolumen- (Hume et al., 1996) und Spill-over-Effekten (Hume et al., 1996, Kuge et al., 1997), die zu Unter- beziehungsweise Überschätzungen der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen führen können. Letzteres ist insbesondere in den frontokortikalen und rostral gelegenen striatalen Arealen der Fall, während ersteres die Quantifizierung der Radioaktivitätskonzentrationen in dünnen Strukturen wie dem Neokortex und den kaudalen striatalen Anteilen beeinträchtigt. Da in unserer Studie weder eine Partialvolumen-, noch eine Spill-over-Korrektur durchgeführt wurde, sind Konfundierungen bei der Bestimmung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen möglich, während dies bei der Bestimmung der zerebellären Radioaktivitätskonzentrationen unwahrscheinlich ist, da diese Region infolge ihrer Größe keinem der beiden in Rede stehenden Effekte unterliegt. Dabei ist es jedoch bemerkenswert, dass die striatozerebellären Baseline-Quotienten (Reichweite: 2.0 – 2.9) in unserer *in vivo* Untersuchung in der gleichen Größenordnung wie der von Verhoeff und Mitarbeitern bestimmte mittlere D₂-Rezeptor-Bindungsquotient von 4.6 lag (Verhoeff et al., 1991b). In Anbetracht der unterschiedlichen Methoden (*in vivo* Bildgebung gegenüber *ex vivo* Radioaktivitätsbestimmung von Gewebeproben mit dem Gammazähler) und des Fehlens einer Partialvolumenkorrektur in unserer Untersuchung zeigen unsere Resultate eine gute Übereinstimmung mit den *ex vivo* Ergebnissen von Verhoeff und Mitarbeitern. Aus dieser Übereinstimmung erhellt, dass unsere Methode geeignet ist, reliable Abschätzungen striataler BPs zu liefern.

Unsere Befunde zeigen, dass mit dem TierSPECT *in vivo* Untersuchungen der [¹²³I]IBZM-Bindung an D₂-Rezeptoren in Konkurrenz mit exogenen und endogenen Liganden durchgeführt werden können. Dabei hat die Durchführung von Longitudinaluntersuchungen an demselben Tier den besonderen Vorteil, dass auf diese Weise der natürlichen Varianz der D₂-

Rezeptorbindung unter Baseline-Bedingungen Rechnung getragen wird. Diese Methode wurde unseres Wissens bislang nicht eingesetzt und ist nicht nur für die *in vivo* Evaluierung neuer Radioliganden sondern auch für die *in vivo* Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Rezeptor- und/oder Transporterbindung und Veränderungen in der endogenen DA-Konzentration von zukunftsweisender Bedeutung. Dies betrifft insbesondere Tiermodelle für das ADHS, das durch eine Dysregulation der synaptischen DA-Konzentration gekennzeichnet ist. Überdies können mit dieser Methode an Tiermodellen für neurodegenerative Erkrankungen wie etwa Morbus Parkinson Langzeituntersuchungen von Prozessen durchgeführt werden, die mit der Depletion und Erholung synaptischer DA-Konzentrationen in Zusammenhang stehen. Dies gilt ebenso für die Untersuchung kompensatorischer Mechanismen wie etwa die Entwicklung von Rezeptorsupersensitivität, die nach neurotoxischer Läsion der nigrostriatalen Faserverbindungen in Erscheinung tritt.

2.2.4. Quantifizierung der [¹²³I]FP-CIT-Bindung an den striatalen DAT nach pharmakologischer Blockade des D₂-Rezeptors mit Haloperidol⁷

2.2.4.1. Einleitung

Neuroleptika wie HAL erhöhen Synthese, Metabolismus und Freisetzung von DA im Neostriatum und verwandten mesolimbischen Strukturen (Carlsson & Lindqvist, 1963, Imperato & Di Chiara, 1985, Zetterström et al., 1984, Moghaddam & Bunney, 1990, Pehek & Yamamoto, 1994, Pehek et al., 1999, Garris et al., 2003). Ebenso stimulieren diese Substanzen die elektrische Aktivität DAerger Neuronen (Bunney et al., 1973, Chiodo & Bunney, 1983).

Die erwähnten neuroleptikaindizierten Veränderungen werden in der Literatur durch drei unterschiedliche Mechanismen erklärt: zum einen kann die Steigerung der elektrischen Aktivität DAerger Neurone eine Zunahme der Neurotransmitterfreisetzung induzieren (Imperato & Di Chiara, 1985). Ursprünglich dachte man, dass dieser Mechanismus durch die Blockade der postsynaptischen D₂-Rezeptoren und indirekte striatonigrale Feedback-Schleifen mediiert wird (Bunney et al., 1973, Carlsson & Lindqvist, 1963, Carlsson, 1975); spätere Studien erbrachten jedoch keinerlei Nachweis für die Existenz solcher neuronaler Verbindungen (Di Chiara et al., 1977). Als weiterer möglicher Wirkmechanismus wird die Blockade von D₂-Autorezeptoren diskutiert, die auf den DAergen Zellkörpern lokalisiert sind und die die elektrische Aktivität der DAergen Neurone modifizieren könnten, ohne dass eine Notwendigkeit für die Beteiligung interneuronaler Faserverbindungen besteht (Groves et al., 1975). Eine dritte Erklärung ist eine Blockade von präsynaptisch auf den DA ergen Nerven terminalen lokalisierten D₂-Autorezeptoren (Kehr et al., 1972, Pehek & Yamamoto, 1994, Westerink & de Vries, 1989, Santiago & Westerink, 1991), die die normale Feedback-Hemmung inhibiert und auf diese Weise zu einer Steigerung der DA-Synthese und/oder -Freisetzung führt. Nachdem die Läsionsstudien von Westerink und de Vries zeigten, dass Ratten mit striatalen - mithin postsynaptisch lokalisierten - KA-Läsionen einen nicht-lädierten Tieren vergleichbaren Anstieg der endogenen DA-Konzentration aufwiesen, liegt die Schlussfolgerung nahe, dass die Blockade der präsynaptischen D₂-Autorezeptoren den einzigen Mechanismus darstellt, über den der neuroleptikainduzierte

⁷ Durchführung des Experimentes: August 2004 – November 2005; submitted

Anstieg der endogenen DA-Konzentration mediiert wird (Westerink & de Vries, 1989).

In früheren Untersuchungen wurde die direkte Kompetiton eines Radioliganden mit HAL oder seine Verdrängbarkeit durch HAL von der DAT-Bindungsstelle untersucht; als Radioliganden fanden hierbei [^{99m}Tc]TRODAT (Kung et al., 1997), [^{123}I]FP-CIT (Lavalaye et al., 2000), [^3H]CFT (Scheffel et al., 1996) oder sein Analogon [^{125}I]RTI-55 (Cline et al., 1992) Verwendung. Ferner wurde in einer *in vivo* Studie an Schweinen die Wirkung der HAL-induzierten Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration auf die postsynaptische D₂-Rezeptorbindung untersucht (Ishizu et al., 2000).

Nachdem in den vorangegangenen TierSPECT-Studien die Wirkung von MP auf die DAT-Bindung (s. Kapitel 2.2.2.), die Wirkung von HAL auf die D₂-Rezeptorbindung (s. Kapitel 2.2.3.) und die Wirkung erhöhter endogener DA-Konzentrationen auf die D₂-Rezeptorbindung (s. Kapitel 2.2.3.) untersucht wurde, war der Gegenstand der nunmehr dargestellten Studie die Untersuchung des Einflusses der HAL-induzierten Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration auf die DAT-Bindung im Striatum der Ratte (Nikolaus et al., submittiert). Dazu wurde die DAT-Bindung unter Baseline-Bedingungen und eine Stunde nach Vorbehandlung mit HAL mit [^{123}I]FP-CIT als Radioligand untersucht. Hierbei war unsere Hypothese, dass Veränderungen in der [^{123}I]FP-CIT-Bindung an den striatalen DAT Veränderungen in der synaptischen DA-Konzentration widerspiegeln, die ihrerseits durch die HAL-Bindung an die präsynaptischen D₂-Autorezeptoren induziert werden.

2.2.4.2. Methode

2.2.4.2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten zehn männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 430 ± 50 g (Tierversuchsanlage, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf). Die Experimente wurden von der Bezirksregierung in Düsseldorf genehmigt und in Übereinstimmung mit den „Prinzipien der Labortierpflege“ (NIH Publikation No. 68-23, revidierte Fassung von 1985) und dem Deutschen Tierschutzgesetz in der Nuklearmedizinischen Klinik (Universitätsklinikum Düsseldorf) durchgeführt.

2.2.4.2.2. SPECT-Messungen

Bildgebung des DAT. Alle Ratten wurden einer Baseline-Messung (keine Vorbehandlung) und einer Messung nach Vorbehandlung mit HAL unterzogen. An drei weiteren Tieren wurde eine zusätzliche Messung nach Vorbehandlung mit der Vehikelsubstanz (100% Ethanol) durchgeführt. Die Untersuchungen fanden in randomisierter Reihenfolge statt. Für die Baseline-Messungen wurden die Tiere kurzzeitig mit Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, BRD) anästhesiert und erhielten Injektionen von Ketaminhydrochlorid (Ketavet®, Pharmacia GmbH, Erlangen, BRD; Konzentration: 100 mg/ml, Dosis 0.9 ml/kg) und Xylazinhydrochlorid (Rompun®, Bayer, Leverkusen, BRD; Konzentration: 0.02 mg/ml, Dosis: 0.4 mg/kg) in das Peritoneum. [^{123}I]FP-CIT (Amersham Buchler, Braunschweig, BRD; 26 ± 7 MBq; Konzentration: 0.07 – 0.12 $\mu\text{g/ml}$, spezifische Aktivität: $2.5 - 4.5 \times 10^{14}$ Bq/mmol) wurde den Tieren mit Hilfe eines Butterflies in die laterale Schwanzvene appliziert. Der Schlauch des Butterflies wurde mit 1 ml 0.9% NaCl gespült, so dass das gesamte Injektionsvolumen 1.3 ml betrug. In den Behandlungsbedingungen wurde den Ratten eine Stunde vor [^{123}I]FP-CIT-Injektion entweder 1 mg/kg HAL (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, BRD; Konzentration: 1 mg/ml, Vehikel: 100% ETH) oder 1 ml/kg ETH (Konzentration: 100 mg/ml) intraperitoneal appliziert.

Da vorausgegangene Untersuchungen am Menschen gezeigt haben, dass das Equilibrium der [^{123}I]FP-CIT-Bindung zwei Stunden nach Injektion erreicht ist und in den folgenden sechs Stunden stabil bleibt (Seibyl et al., 1998, Booij et al., 1999), wurden die TierSPECT-Messungen zwei Stunden nach Radioligandenapplikation durchgeführt. Die Datenakquisition erfolgte in Winkelschritten von 6° (60 Projektionen, 60 s/Projektion) mit einem Rotationsradius von 65 mm. Das Energiefenster wurde auf den Gamma-Photopeak von ^{123}I ($159 \text{ keV} \pm 15\%$) eingestellt.

Datenanalyse. Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem MPI-Tool (Advanced Tomo Vision, Erftstadt, BRD). Wie in den vorangegangenen Kapiteln beschrieben, wurde ein [^{123}I]FP-CIT- mit einem [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD-Scan überlagert und auf dem Fusionsbild ein ROI-Template mit striatalen und zerebellären ROIs definiert, die kreisförmige (Striatum) oder ellipsoide (Zerebellum) Flächen mit einer Größe von 1.5 beziehungsweise 7 mm^2 umschrieben und über dem Aktivitätsmaximum der jeweiligen Strukturen platziert wurden. Dieses Template wurde auf die Bilder der HAL- und ETH-behandelten Ratten übertragen, wobei die einzelnen ROIs ohne Veränderung ihres Umrisses oder ihrer Größe über die jeweiligen Aktivitätsmaxima gelegt wurden.

Da auch die Harderschen Drüsen und die Speicheldrüsen durch eine ausgeprägte Radioaktivitätsakkumulation gekennzeichnet sind, wurden auch innerhalb dieser Strukturen auf transversalen beziehungsweise sagittalen Bildern ROIs (Fläche: 1.5 mm²) definiert. Dabei ist bei der räumlichen Auflösung des TierSPECTS keine Differenzierung zwischen den Radioaktivitätsanreicherungen in den paarigen Speicheldrüsen, die sich über den gesamten ventralen Halsbereich ausdehnen und den dorsal von ihnen gelegenen Schilddrüsen möglich, die lediglich 1 mm lang sind und beiden Seiten der Trachea anliegen.

Bestimmung von V_3 '. Bei der Beschreibung des kinetischen Verhaltens von [¹²³I]FP-CIT kann man von einem Drei-Kompartiment-Modell mit einem Blutplasma- (C_1) und zwei Gewebekompartimenten C_2 und C_3 ausgehen, die die arteriellen, freien plus nicht-spezifisch gebundenen und spezifisch gebundenen Radioligandenkonzentrationen bezeichnen. Für die exakte Bestimmung des BPs ist die Messung der nicht-metabolisierten und nicht an Proteine gebundenen Fraktionen in C_1 erforderlich; sind diese Werte nicht verfügbar, müssen Abschätzungen des BPs vorgenommen werden. Dies kann durch die Bestimmung von V_3 ' erfolgen. Sind die Gleichgewichtskonzentrationen des freien und des nicht-spezifisch gebundenen Liganden in allen Gehirnregionen gleich, ergibt sich V_3 ' aus $V_T(\text{ROI})/V_T(\text{REF})-1$ (Laruelle et al., 1994). Dieses semiquantitative Maß hängt mit BP wie folgt zusammen; $V_3' = V_3/V_2 = \text{BP}/V_2 = B_{\text{max}}/V_2 K_D = k_3/k_4$ (s. Übersichtsarbeit von Ichise et al., 2001).

Auswertung. Die striatalen V_3 '-Werte wurden für einzelnen für die einzelnen experimentellen Bedingungen (Baseline, HAL, ETH) aus den Radioaktivitätskonzentrationen (Counts/mm³) in ROI und zerebellärer REF berechnet. Linke und rechte striatale Radioaktivitätskonzentrationen wurden für jedes Tier gemittelt. Die Zählrate in Speicheldrüsen und Harderschen Drüsen wurden auf das Kleinhirn normiert; auch diese Quotienten erwiesen sich als normalverteilt. Für jede Behandlungsbedingung wurden die Daten mit dem nicht-parametrischen Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet ($0.797 < p < 0.99$).). Zum Ausschluss möglicher Einflüsse von HAL auf die nicht-spezifische Radioligandenakkumulation – etwa durch Perfusionseffekte – wurden die zerebellären Radioaktivitätskonzentrationen zwischen den Behandlungsbedingungen verglichen (Baseline vs HAL: $n = 10$; Baseline vs ETH: $n = 3$; HAL vs ETH: $n = 3$) mit dem nicht-parametrischen Friedman-Test für verbundene Stichproben verglichen ($p = 0.368$).

Für jede Bedingung (Baseline, HAL, ETH) wurden MWs und SDs berechnet. Die

striatalen V_3'' -Werte und die glandulären Quotienten wurden mit dem paarigen t-Test (zweiseitig, $\alpha = 0.05$) zwischen den Behandlungsbedingungen verglichen (Baseline vs HAL: $n = 10$; Baseline vs ETH: $n = 3$; HAL vs ETH: $n = 3$). Für multiple Vergleiche wurde nicht korrigiert.

2.2.4.3. Ergebnisse

Abb. 24 A zeigt die intra- und extrazerebralen Anreicherungen von [^{123}I]FP-CIT unter Baseline-Bedingungen auf einem charakteristischen transversalen Schnittbild. Sichtbar ist die Radioligandenanreicherung im paarigen Striatum. Abb. 24 B zeigt die [^{123}I]FP-CIT-Anreicherung nach Vorbehandlung mit HAL. Die Reduktion der striatalen [^{123}I]FP-CIT-Bindung ist offensichtlich.

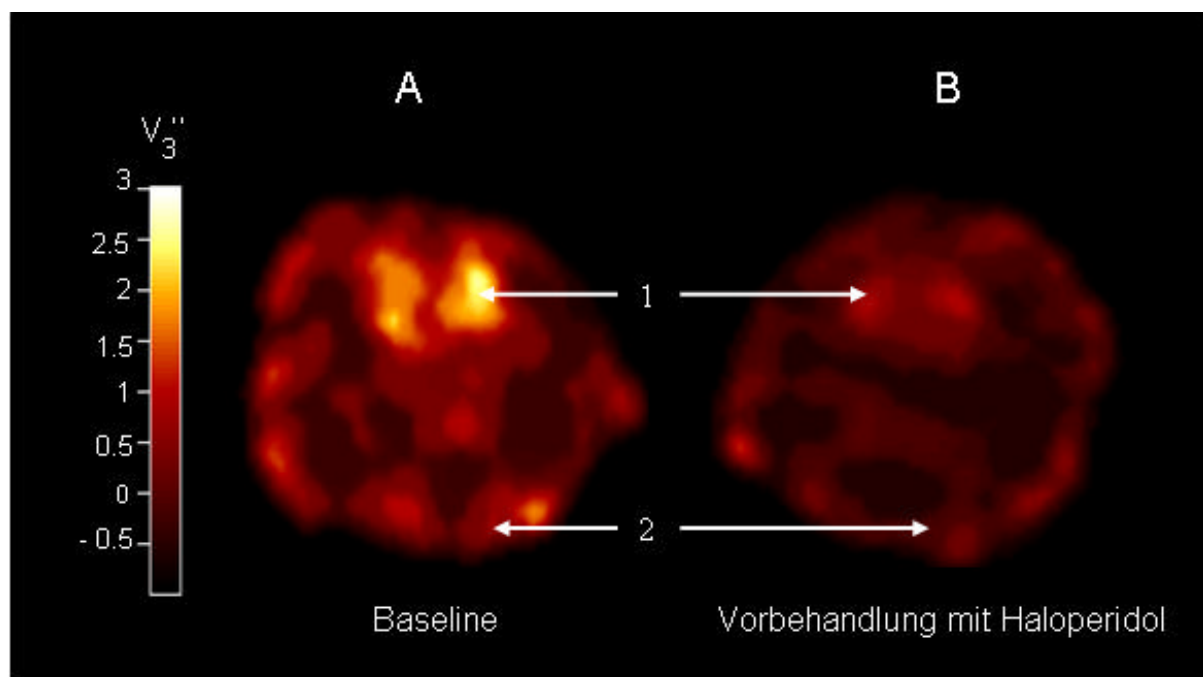


Abb. 24. Charakteristische transversale [^{123}I]FP-CIT-Bilder unter Baseline-Bedingungen und nach Vorbehandlung mit HAL. (A) [^{123}I]FP-CIT-Anreicherung unter Baseline-Bedingungen. Sichtbar sind die Radioaktivitätsanreicherungen im paarigen Striatum. (B) [^{123}I]FP-CIT-Anreicherung nach Vorbehandlung mit 1 mg/kg HAL. Die Abbildung zeigt V_3'' -Werte. Die Berechnung erfolgte mit MATLAB (Version 4.2c, The MathWorks Inc., Novi, USA). Dabei versteht sich, dass die Berechnung von V_3'' nur für Regionen wie das Striatum mit spezifischer Radioligandenbindung valide ist. Die abgebildete Ratte zeigt eine $\sim 30\%$ ige Reduktion der striatalen DAT-Bindung. 1, Striatum, 2, Speicheldrüsen. Nikolaus et al., *submitted*.

In der Baseline-Bedingung (Abb. 24) und nach Vorbehandlung mit ETH betrugen die striatalen V_3'' -Werte 1.21 ± 0.34 (MW $\pm$ SD) beziehungsweise 1.53 ± 0.83 (paariger t-Test, zweiseitig, $p = 0.728$). Nach Vorbehandlung mit HAL (Abb. 25) sanken die V_3'' -Werte auf 0.93 ± 0.37 . Die Unterschiede zu den V_3'' -Werten der Baseline-Bedingung waren signifikant ($p = 0.022$). Der Vergleich von HAL- und ETH-Bedingung ergab ein p von 0.31. Der Vergleich von HAL- und ETH-Bedingung ergab ein p von 0.31.

Für Speicheldrüse und Hardersche Drüsen ergaben sich zerebelläre Quotienten von 3.97 ± 1.93 und 3.03 ± 1.03 (Baseline), 4.61 ± 1.02 und 3.71 ± 0.44 (Vorbehandlung mit ETH) beziehungsweise 3.44 ± 1.21 und 2.60 ± 0.66 (Vorbehandlung mit HAL). Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsbedingungen (paariger t-Test, zweiseitig, $0.142 < p < 0.86$).

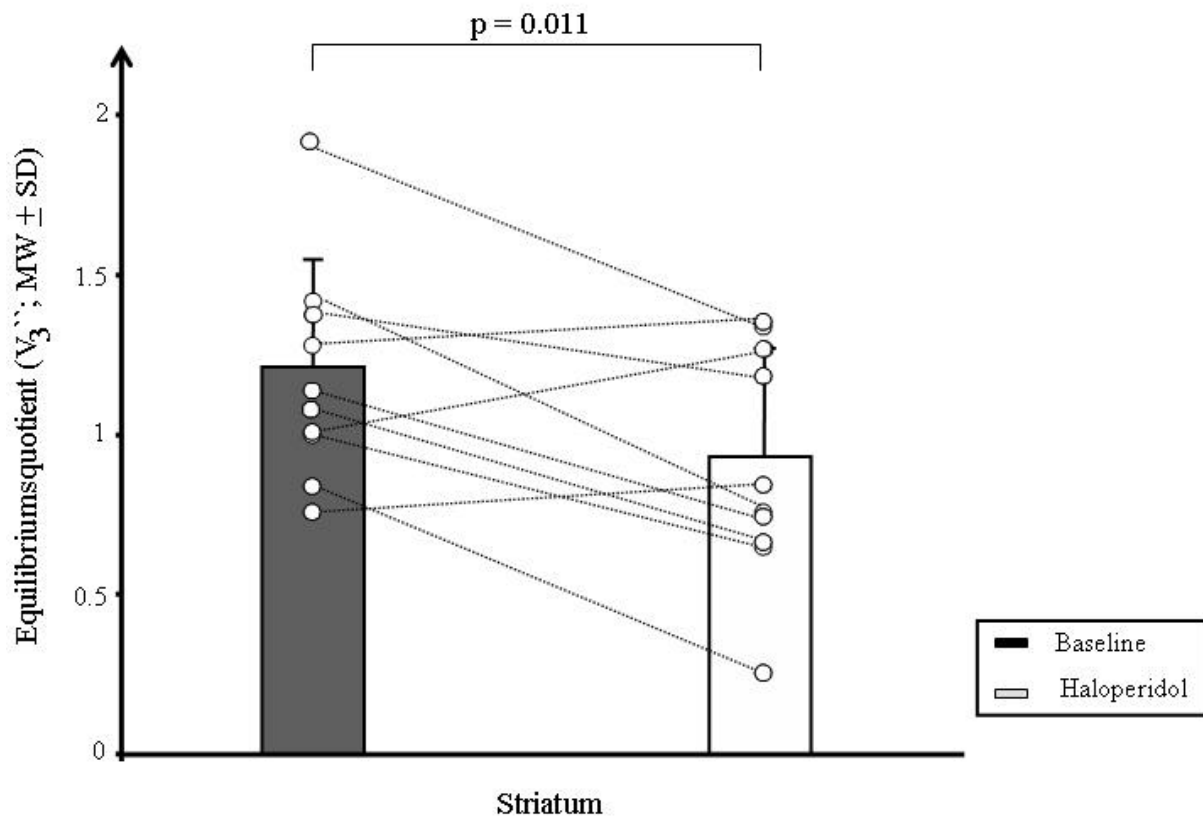


Abb. 25. Striatale Equilibriumquotienten (V_3'' ; [123 I]FP-CIT) in Baseline und nach Vorbehandlung mit HAL. Abgebildet sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Die Kreise repräsentieren die einzelnen Tiere. Die V_3'' -Werte, die für die einzelnen Ratten an den verschiedenen Messtagen ermittelt wurden, sind durch gepunktete Linien verbunden.

2.2.4.4. Diskussion

In dieser *in vivo* Bildgebungsstudie induzierte die Vorbehandlung mit 1 mg/kg HAL verglichen mit der Baseline-Bedingung eine 23%ige Reduktion der [123 I]FP-CIT-Bindung. ETH übte keinen signifikanten Einfluss auf die spezifische striatale DAT-Bindung aus. Ebenso wenig unterschieden sich die Radioaktivitätsanreicherungen in den Speicheldrüsen und Harderschen Drüsen zwischen den Bedingungen. Diese Ergebnisse stimmen mit den unter 2.2.2. und 2.2.3. beschriebenen Befunden überein, die auch keinen Einfluss der pharmakologischen Challenges mit MP und HAL auf die [123 I]FP-CIT- beziehungsweise [123 I]IBZM in den glandulären Geweben zeigten. Darüber hinaus unterschieden sich die zerebellären Radioaktivitätskonzentrationen nicht zwischen den Behandlungsbedingungen; dies zeigt, dass HAL unter den hier gewählten experimentellen Bedingungen keine konfundierenden Einflüsse auf die nicht-spezifische Radioligandenakkumulation – etwa durch Perfusionseffekte hervorgerufen haben kann.

Neuroleptika erhöhen Synthese, Metabolismus und Freisetzung von DA im Neostriatum und verwandten mesolimbischen Strukturen (Carlsson & Lindqvist, 1963, Imperato & Di Chiara, 1985, Zetterström et al., 1984, Moghaddam & Bunney, 1990, Pehek & Yamamoto, 1994, Pehek et al., 1999, Garris et al., 2003). Als Wirkmechanismus wird dabei angenommen, dass die Blockade von präsynaptisch auf den DAergen Nerven terminalen lokalisierten D₂-Autorezeptoren die normale Feedback-Hemmung inhibiert und auf diese Weise zu einer Steigerung der DA-Synthese und/oder –Freisetzung führt (Westerink & de Vries, 1989). Dies legt nahe, dass unsere Ergebnisse die HAL-induzierte Steigerung der DA-Freisetzung über präsynaptische D₂-Autorezeptorbindungsstellen zeigen. Dieser Befund stimmt mit früheren Resultaten überein, die für das Striatum der Ratte mittels *in vivo* Mikrodialyse (Moghaddam & Bunney, 1990, Pehek & Yamamoto, 1994, Pehek, 1999) und *in vivo* Voltammetrie (Kawagoe et al., 1992, Wiedemann et al., 1992) beschrieben wurden.

In vitro Studien erbrachten keinerlei Hinweis darauf, dass HAL eine Affinität für den DAT aufweist (K_i, 13000 nM; Bryan-Lluka et al., 1993). Damit kann eine direkte Wirkung von HAL auf diese Bindungsstelle ausgeschlossen werden. Jedoch sind die Befunde hinsichtlich der Affinität der HAL-Metaboliten für den DAT kontrovers: *in vitro* wurde praktisch keine Affinität beobachtet (Bryan-Lluka et al., 1993), während *in vivo* Untersuchungen am Affen ergaben, dass die chronische Behandlung mit dem HAL-Metaboliten 4-(4-Chlorophenyl)-1-[4-(4-fluorophenyl)-4-oxobutyl]-1,2,3,6-tetrahydropyridin (HPTP) sowohl die [123 I]IBZM- als auch die

[¹²³I]β-CIT-Bindung in Basalganglien und Zerebellum reduzierte (Oliver et al., 1997). Mithin kann nicht ausgeschlossen werden, dass in unserer Studie nicht nur HAL, sondern auch sein Metabolit HPTP an sowohl prä- als auch postsynaptische DAerge Bindungsstellen gebunden hat.

Bislang liegen keine gesicherten Befunde vor, die die Verdrängbarkeit von Tropananaloga durch endogenes DA zeigen: so beobachteten Laruelle und Mitarbeiter nach Infusion von L-DOPA (250 µmol/kg) keine Reduktion der [¹²³I]β-CIT-Bindung im Striatum non-humaner Primaten, während sich andererseits nach Injektion von AMPH (10.8 µmol/kg) eine 50%ige Abnahme der [¹²³I]β-CIT-Bindung zeigte (Laruelle et al., 1993). Da AMPH jedoch nicht nur die DA-Ausschüttung erhöht, sondern auch die DA-Wiederaufnahme inhibiert (Horn et al., 1970), könnte die von Laruelle und Mitarbeitern beobachtete Reduktion der [¹²³I]β-CIT-Bindung auf eine direkte Konkurrenz zwischen AMPH und [¹²³I]β-CIT um die DAT-Bindungsstellen zurückzuführen sein. Allerdings ergab sich nach Challenge mit AMPH (ED₅₀ = 8.5 µmol/kg) eine ebenso hohe Verdrängung von [¹²³I]β-CIT wie nach Challenge mit Kokain ((ED₅₀ = 9.5 µmol/kg), wobei jedoch die Affinität von AMPH für den DAT gegenüber der Affinität von Kokain um das zehn- bis 20fache erniedrigt ist (Laruelle et al., 1993). Dies legt nahe, dass an der AMPH-induzierten Reduktion der [¹²³I]β-CIT-Bindung neben der direkten DAT-Blockade ein weiterer Mechanismus beteiligt sein muss.

Damit ergibt sich die Frage nach dem Verhältnis der Affinitäten von [¹²³I]FP-CIT und DA für den DAT, da dies determiniert, ob eine Erhöhung der DA-Konzentration in der beobachteten Größenordnung mit einer 23%igen Reduktion der [¹²³I]FP-CIT-Bindung vereinbar ist. Bislang wurde der K_D von [¹²³I]FP-CIT nicht experimentell bestimmt. Bekannt ist lediglich der K_i, der - unter Konkurrenz mit dem DAT-Liganden GBR12909 - 3.5 nM beträgt (Neumeyer et al., 1994), während für DA bei Verwendung des gleichen Kompetitors ein IC₅₀-Wert von 3.7 nM (Matecka et al., 1996) und bei Verwendung von WIN 35,065-Analoga K_i-Werte zwischen 0.59 und 19 nM berichtet wurden (Kotian et al., 1996). Dies erlaubt keine genaue Einschätzung der Bindungsverhältnisse an der präsynaptischen Endigung. Liegen die Affinitäten des exogenen und des endogenen Liganden in der gleichen Größenordnung, geht eine 23%ige Abnahme der [¹²³I]FP-CIT-Bindung mit einer ebenso hohen Zunahme der synaptischen DA-Konzentration einher. Ist die Affinität von DA für den DAT um eine Größenordnung – einen Faktor 10 - niedriger, wie der von Rothman und Mitarbeitern mitgeteilte K_m-Wert von 38.8 nM nahe legt (Rothman et al., 1993), so ist eine 23%ige Abnahme der [¹²³I]FP-CIT-Bindung das Ergebnis

einer Zunahme des synaptischen DAs auf $\approx 200\%$ der Ausgangskonzentration. Im Augenblick ist jedoch in diesem Zusammenhang auf den vorläufigen Charakter unserer Studie hinzuweisen.

Die dynamische Akquisition der Zählraten in der Studie von Ishizu und Mitarbeitern ermöglichte die direkte Bestimmung von Qualität, Quantität und Zeitverlauf der durch HAL induzierten Veränderungen (Ishizu et al., 2000). Dies war in unserer Untersuchung an Ratten nicht möglich, da wir eine dedizierte Kleintier-SPECT-Kamera verwendeten; diese hat zwar den Vorteil einer im Vergleich zum klinischen PET-Scanner (Siemens ECAT Exact HR47; Ishizu et al., 2000) erhöhten Ortsauflösung, jedoch die nachteilige Eigenschaft einer niedrigen Sensitivität. Die ist ein Charakteristikum der meisten Kleintier-SPECT-Scanner einschließlich der aufgerüsteten klinischen Kameras (s. Tab. II und III im Anhang) und hat seine Ursache in der Verwendung dünner Kristalle und Pin- oder Parallellochkollimatoren kleiner Lochdurchmesser. Infolgedessen sind bei der Durchführung von Kleintier-SPECT-Studien in der Regel lange Aufnahmezeiten erforderlich, die eine dynamische Zählratenakquisition und damit eine Kompartimentanalyse der Bindungsdaten unmöglich machen. Um die HAL-induzierten Veränderungen der synaptischen DA-Konzentration quantitativ abzuschätzen, sind weitere Untersuchungen erforderlich, die entweder TierSPECT- und *in vivo* Mikrodialysemessungen für jedes Tier kombinieren oder Multipinhole-SPECT anwenden. Diese Methode wird gegenwärtig für die dynamische Datenakquisition evaluiert (Wirrwar et al., 2003, 2006).

In jüngerer Zeit wurde in verschiedenen Studien die DAT-Bindung bei schizophrenen Patienten untersucht; als Radioliganden fanden hierbei [^{18}F]CFT (Laakso et al., 2000, 2001), [^{123}I]β-CIT (Laruelle et al., 2000, Yoder et al., 2004, Sjöholm et al., 2004), [^{123}I]FP-CIT (Lavalaye et al., 2001) oder [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]TRODAT (Hsiao et al., 2003, Schmitt et al., 2005) Verwendung. Die Ergebnisse waren inkonsistent und zeigten sowohl unveränderte (Laruelle et al., 2000, Laakso et al., 2000, Lavalaye et al., 2001, Yoder et al., 2004, Schmitt et al., 2005) als auch erhöhte (Hsiao et al., 2003, Sjöholm et al., 2004) und erniedrigte (Laakso et al., 2001, Hsiao et al., 2003) DAT-Bindungen. Interessanterweise wurden ebenfalls bei medizierten Patienten sowohl Erhöhungen (Sjöholm et al., 2004) als auch Erniedrigungen (Laakso et al., 2001) beobachtet, während Lavalaye und Mitarbeiter keine Unterschiede in der DAT-Bindung zwischen drogennaiven Patienten, medizierten Patienten und unbehandelten Kontrollpersonen fanden (Lavalaye et al., 2001). In diesem Zusammenhang stimmen unsere Befunde mit den Untersuchungsergebnissen von Laakso und Mitarbeitern überein, die an Patienten unter

chronischer Medikation mit Neuroleptika erhoben wurden (Laakso et al., 2001). Dies gilt jedoch nur mit der Einschränkung, dass Befunde an „normalen“ Ratten nicht notwendigerweise mit Befunden an schizophrenen Patienten vergleichbar sind, zumal Faktoren wie die Dauer der Erkrankung und die aktuelle Krankheitsphase den Regulationszustand der prä- und postsynaptischen Bindungsstellen erheblich beeinflussen können. Da unsere Ratten nach akuter Verabreichung von HAL untersucht wurden, muss darüberhinaus in weiteren Untersuchungen geklärt werden, welchen Einfluss die chronische Verabreichung von HAL auf die DA-Freisetzung und die präsynaptischen DAT-Dichten ausübt. Auch die Beziehung zwischen der HAL-Dosis und dem Ausmaß der induzierten Veränderungen in der DAT-Bindung ist ein interessanter Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Laruelle und Mitarbeiter bestimmten in ihrer Studie einerseits V_3 '' als Maß der DAT-Bindung und andererseits die relative Abnahme der D_2 -Rezeptorbindung als Maß für die AMPH-induzierte DA-Freisetzung mit [123 I]β-CIT beziehungsweise [123 I]IBZM als Radioliganden und beobachteten weder bei Patienten noch bei Kontrollen eine Korrelation zwischen der DAT-Dichte und der AMPH-induzierten DA-Freisetzung (Laruelle et al., 2000). Dabei jedoch wurden die DAT-Bindungsstudien bei den Patienten 15 ± 6 Tage vor den [123 I]IBZM-Messungen und bei den Kontrollpersonen entweder 155 ± 173 Tage vor oder 49 ± 71 Tage nach den [123 I]IBZM-Messungen durchgeführt (Laruelle et al., 2000). Folglich wurden in dieser Studie - und auch das ausschließlich bei der Bestimmung der DAT-Bindung 49 ± 71 Tage nach den [123 I]IBZM-Messungen - Langzeiteffekte untersucht; keine Bestrebung war jedoch dahin gerichtet, den direkten Zusammenhang zwischen der akut induzierten DA-Freisetzung und Veränderungen in der DAT-Bindung zu erfassen. Da dies das ausdrückliche Ziel unserer Studie war, ermittelten wir die relative Abnahme von V_3 '' als Maß für die HAL-induzierte DA-Freisetzung und untersuchten somit auf direkte Weise die Konkurrenz zwischen dem exogenen Radioliganden und dem endogenen DA.

Ein Faktor von zu nicht zu unterschätzender Bedeutung ist die Anästhesie, die die in der Zielregion gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen unabhängig von der verwendeten Kamera beeinflussen kann. So haben Untersuchungen gezeigt, dass Ketavet und Xylazin die spezifische Bindung des SERT-Liganden [3 H](S)-Citalopram und des DAT-Liganden [125 I]PE2I reduzieren (Elfving et al., 2003), Ketamin allein aber die des D_2 -Rezeptorliganden [11 C]MSP-Bindung erhöht (Onoe et al., 1994). Da für andere Anästhetika (Isofluran, Halothan: Ishiwata et al., 1999,

Elfving et al., 2003, Ma et al., 2004; Pentobarbital: Onoe et al., 1994) ähnliche Beeinflussungen der Bindung unterschiedlicher Liganden beschrieben wurden, führten wir unsere Untersuchungen ungeachtet der beschriebenen Effekte von Ketavet und Xylazin mit diesen Substanzen als Anästhetika durch. Damit ist nicht von der Hand zu weisen, dass Ketavet/Xylazin auch in unserer Untersuchung in Analogie zur [125 I]PE2I-Bindung an den DAT zu einer Erniedrigung der [123 I]FP-CIT-Bindung im Striatum der Ratte führte. Da jedoch in allen Versuchsbedingungen die gleiche Anästhesie vorgenommen wurde, bleibt hiervon die Vergleichbarkeit der Daten über die Behandlungsgruppen unberührt.

Wie in den zuvor beschriebenen Untersuchungen resultiert jedoch eine Limitierung unserer Studie aus dem Umstand, dass die für die Identifikation der anatomischen Landmarken verwendeten Überlagerungsbilder mit der in das MPI-Tool implementierten Fusionsfunktion erfolgte, worauf die Bilder durch manuelle Verschiebung in x-, y- und z-Achse bestmöglich zur Deckung gebracht wurden. Beides stellt eine potentielle Fehlerquelle dar, zumal keine zusätzlichen Markierungen auf die Rattenköpfe aufgebracht wurden. Überdies stammte der [99m Tc]DPD-Scan von einem anderen Tier als die [123 I]FP-CIT-Bilder, während die Bildgebung des Knochenstoffwechsels idealerweise an denselben Tieren wie die Rezeptorbildgebung erfolgen sollte. Da die ROI-Definition auf einer groben Lokalisierung anatomischer Landmarken basierte, ist nicht auszuschließen, dass weder die für die ROI-Definition ausgewählten Schichten noch die Positionen derselben für alle Tiere identisch waren. Dies gilt insbesondere für die SPECT-Messungen nach Vorbehandlung mit HAL, da die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen in diesen Fällen erheblich reduziert waren, was zu einer deutlich Erschwerung der ROI-Definition führte. Infolgedessen ist nicht von der Hand zu weisen, dass Fehler in der Positionierung von ROI oder REF zu Konfundierungen bei der Quantifizierung von V_3 geführt haben. Weitere Fehlerquellen resultieren aus Partialvolumen- (Hume et al., 1996) und Spill-over-Effekten (Hume et al., 1996, Kuge et al., 1997), die zu Unter- beziehungsweise Überschätzungen der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen führen können. Letzteres ist insbesondere in den frontokortikalen und rostral gelegenen striatalen Arealen der Fall, während ersteres die Quantifizierung der Radioaktivitätskonzentrationen in dünnen Strukturen wie dem Neokortex und den kaudalen striatalen Anteilen beeinträchtigt. Da in unserer Studie weder eine Partialvolumen-, noch eine Spill-over-Korrektur durchgeführt wurde, sind Konfundierungen bei der Bestimmung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen möglich, während dies bei der

Bestimmung der zerebellären Radioaktivitätskonzentrationen unwahrscheinlich ist, da diese Region infolge ihrer Größe keinem der beiden in Rede stehenden Effekte unterliegt.

In einigen früheren *in vitro* und *ex vivo* Untersuchungen wurde die direkte Kompetiton eines Radioliganden mit HAL oder seine Verdrängbarkeit durch HAL von der DAT-Bindungsstelle untersucht; als Radioliganden fanden hierbei [^{99m}Tc]TRODAT (Kung et al., 1997), [^{123}I]FP-CIT (Lavalaye et al., 2000), [^3H]CFT (Scheffel et al., 1996) oder sein Analogon [^{125}I]RTI-55 (Cline et al., 1992) Verwendung. Dabei wurde HAL intravenös verabreicht; dies erfolgte 5 (Kung et al., 1997, Lavalaye et al., 2000), 10 (Scheffel et al., 1996), 20 (Scheffel et al., 1996) oder 30 Minuten (Scheffel et al., 1996) vor oder 30 bis 60 Minuten (Cline et al., 1992, Scheffel et al., 1996) nach Radioligandenapplikation. *In vivo* Mikrodialysestudien haben gezeigt, dass die maximalen striatalen DA-Konzentrationen zwischen 60 und 90 Minuten nach intraperitonealer, 60 Minuten nach intravenöser und 30 Minuten nach intrastriataler Injektion von HAL erreicht werden (Moghaddam & Bunney, 1990, Pehek & Yamamoto, 1994, Pehek, 1999). Damit können bei intravenöser Applikation von HAL zwischen 5 und 30 Minuten vor und 30 bis 60 Minuten nach Radioligandenapplikation bestenfalls seine direkte Kompetiton mit HAL oder seine Verdrängbarkeit durch HAL von der DAT-Bindungsstelle untersucht werden. Die Verdrängung des exogenen Radioliganden durch endogenes DA wird jedoch nur in begrenztem Ausmaß erfasst. Überdies kann die Verdrängbarkeit durch endogenes DA in Abhängigkeit von der molekularen Struktur der verwendeten Radioliganden beträchtlich variieren und damit zu voneinander abweichenden Resultaten führen (Mathis et al., 1992).

Unseres Wissens wurde die Verdrängbarkeit des Tropananalogons [^{123}I]FP-CIT durch endogenes DA bislang weder *in vitro* noch *in vivo* untersucht. Unsere vorläufigen Resultate bieten erste Hinweise auf eine Eignung von [^{123}I]FP-CIT für die Untersuchung fluktuierender DA-Konzentrationen im synaptischen Spalt vom präsynaptischen Standpunkt.

3. Allgemeine Diskussion

3.1. Geräteevaluierung

Voraussetzung für die Untersuchung der synaptischen Regulationsmechanismen mit TierPET und TierSPECT war die Evaluierung der beiden Kameras für die *in vivo* Bestimmung von Rezeptor- und Transporterbindungsparametern im Striatum der Ratte.

Bislang wurden mit sechs dedizierten Kleintier-PETs D₂-Rezeptorbindungsstudien an der Ratte durchgeführt (PCR-I: Nguyen et al., 2000; Hamamtsu SHR-2000: Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998, Ogawa et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Umegaki et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a,b; Hamamtsu SHR-7700: Inaji et al., 2005, RATPET: Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997b, Opacka-Juffry et al., 1998; MicroPET: Rubins et al., 1999, Araujo et al., 2000; quad-HIDAC: Le Masurier et al., 2004). In mehreren Arbeiten wurde dabei auf die mögliche Beeinflussung der im Neostriatum gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen durch Partialvolumen- und Spill-over-Effekte hingewiesen (Kuge et al., 1992, Hume et al., 1996, Fukuyama et al., 1998, Ishiwata et al., 1999, 2002a).

Unsere Ergebnisse zeigten eine signifikante positive Korrelation zwischen den mit dem TierPET und den mit der Methode der Storage-Phosphor-Autoradiographie gemessenen striatalen Radioaktivitätskonzentrationen; dabei konnten insgesamt 68% der Varianz der TierPET-Daten durch die „tatsächlichen“ striatalen [¹⁸F]FMB-Konzentrationen erklärt werden, wie sie mit der Storage-Phosphor-Autoradiographie als Goldstandard ermittelt wurden. Ferner fanden wir, dass die striatale Radioaktivitätskonzentration mit dem TierPET ohne Vornahme einer Partialvolumenkonzentration um $\approx 60\%$ unterschätzt wird. Das Spill-over aus der Harderschen Drüse führte zu einer $\approx 5\%$ igen Überschätzung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen. Dies wurde zum einen durch die räumliche Auflösung der Kamera erreicht, die eine Trennung der striatalen und orbitalen Aktivitätsmaxima erlaubt. Zum anderen wurde der Durchmesser der striatalen ROIs auf 2.5 mm festgesetzt, da die in striatalen ROIs dieser Größe gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen - wie aus Abb. 6 ersichtlich - nur in geringem Ausmaß Spill-over-Strahlung aus den Harderschen Drüse enthalten können. Infolgedessen beeinflusste unsere Spill-over-Korrektur die Quantifizierung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen nur minimal und übte keinerlei Einfluss auf die Korrelation zwischen PET- und Autoradiographie-Daten aus.

Nichtsdestoweniger wurden in der Folge sämtliche mit dem TierPET erhobenen D₂-Rezeptorbindungsdaten nicht nur einer Partialvolumen- sondern auch einer Spill-over-Korrektur unterzogen.

In den bislang mit dedizierten Kleintier-PETs durchgeführten D₂-Rezeptorbindungsstudien wurden [¹¹C]Racloprid (Hume et al., 1995, Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997b, Opacka-Juffry et al., 1998, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Ogawa et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Umegaki et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a,b, Le Masurier et al., 2004, Inaji et al., 2005), [¹¹C]MSP (Maggos et al., 1998, Ogawa et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a), [¹⁸F]ESP (Araujo et al., 2000) und [¹¹C]Nemonaprid (Ogawa et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a) als Radioliganden verwendet. In diesen Studien erfolgte die Auswertung durch die Bestimmung der Radioaktivität als Prozentsatz der pro Gewebevolumen injizierten Radioaktivitätsdosis (Ogawa et al., 2000) sowie durch die Anwendung dynamischer (Tsukada et al., 1996, Unterwald et al., 1997, Maggos et al., 1998), non-invasiv graphischer (Nguyen et al., 2000, Suzuki et al., 2001, Le Masurier et al., 2004) und vereinfachter Referenzgewebe-Modelle (Torres et al., 1995, Hume et al., 1995, 1996, Fricker et al., 1997b, Opacka-Juffry et al., 1998, Araujo et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b, Umegaki et al., 2002, Inaji et al., 2005). Wie in Kapitel 1.2.3.8. dargestellt, liefern diese Methoden einen zuverlässigen Schätzwert für BP; die für die präklinische Evaluierung neuer Radioliganden wichtige Einzelbestimmung der Rezeptorparameter K_D und B_{max} ist jedoch *in vivo* nicht möglich.

Uns stand mit [¹⁸F]FMB ein neuer D₂-Rezeptorligand zur Verfügung, der bislang lediglich an nicht-humanen Primaten eingesetzt wurde (Moerlein et al., 1992a, 1997a, b). Dabei hatten *in vitro* Sättigungsbindungsstudien eine Inhibitionskonstante (K_i) von 3.6 nM für den D₂-Rezeptor ergeben. Die Bestimmung von K_D und B_{max} für den striatalen D₂-Rezeptor der Ratte stand bis *dato* aus. Ein weiteres Problem ergab sich daraus, dass die spezifische Aktivität in Routinesynthesen beträchtlichen Schwankungen unterworfen ist: für unsere *in vivo* Untersuchungen wurden insgesamt 16 [¹⁸F]FMB-Synthesen durchgeführt, wobei spezifische Aktivitäten zwischen 3.56 und 153.66 TBq/mmol erreicht wurden. Da mit der spezifischen Aktivität auch die Menge des „kalten“ FMBs variiert, das mit dem radioaktiv markierten [¹⁸F]FMB um die vorhandenen Bindungsstellen kompetitiert, beschlossen wir, das Prinzip der *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse auf unsere *in vivo* Studien anzuwenden. Dabei wurde die Methode der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse mit der *in vitro* Sättigungsbindungsanalyse als

Goldstandard validiert.

Die *in vivo* mit PET und *in vitro* mit der Methode der Storage-Phosphor-Autoradiographie erhaltenen K_D - und B_{max} -Werte von [^{18}F]FMB betrugen 6.2 und 4.4 nM beziehungsweise 16 und 84 fmol/mg. *In vivo* und *in vitro* Daten zeigten auch dann eine gute Übereinstimmung, wenn – in Analogie zur PET-Auswertung – die kortikale statt der striatalen Benperidol-Bindung in der Anwesenheit von Racloprid als Maß für die nicht-spezifische Bindung betrachtet wurde ($K_D = 7.9$ nM, $B_{max} = 70$ fmol/mg). Ungeachtet der methodischen Unterschiede ergaben die Sättigungsbindungsanalysen in der Art und Weise, wie sie hier durchgeführt wurden, nahezu gleiche K_D -Werte und B_{max} -Werte in der gleichen Größenordnung. Diese Übereinstimmung der Ergebnisse zeigt, dass K_D und B_{max} mit dedizierten Kleintier-PET-Kameras an der lebenden Ratte analog zu *in vitro* Sättigungsbindungsstudien bestimmt werden können.

Die von uns durchgeführte *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse vereinigt die Vorteile zweier Konzepte miteinander: durch die Anwendung der *in vitro* Methode auf die *in vivo* Bildgebung können K_D und B_{max} einerseits in Analogie zu *in vitro* Experimenten bestimmt werden, während andererseits alle Vorteile der *in vivo* Methode erhalten bleiben; hierzu gehört insbesondere die Möglichkeit, die Rezeptorkinetik nicht an Gefrierschnitten oder Membranhomogenaten als bloße Modelle für das Hirngewebe und die Rezeptoroberfläche, sondern am lebenden Organismus zu untersuchen. Überdies wird ein großer Nachteil der *in vivo* Methode, nämlich der Einsatz unterschiedlicher und niedriger spezifischer Aktivitäten, in einen Vorteil verkehrt, da bei der Durchführung von Sättigungsbindungsanalysen ansteigende Radioligandenkonzentration appliziert werden *müssen*, um die Sättigung der Rezeptoren zu erreichen.

Bei einem Vergleich von *in vivo* mit *ex vivo* und *in vitro* Befunden müssen verschiedene Punkte in Betracht gezogen werden. Hierzu gehört zum einen der Umstand, dass *in vivo* keine anatomische Koregistrierung und infolgedessen keine exakte Bestimmung der anterioposterioren stereotaktischen Koordinaten möglich ist. Folglich ist bei der Auswertung der PET- und Autoradiographie-Daten keine exakte Übereinstimmung hinsichtlich der anterioposterioren Schnittebene gewährleistet; aufgrund der bestehenden regionalen Unterschiede in der D_2 -Rezeptordichte bietet dieser Mangel an Übereinstimmung eine Erklärung für den beobachteten Unterschied zwischen *in vivo* und *ex vivo* beziehungsweise *in vitro* erhaltenen B_{max} -Werten.

Überdies haben die zuvor mit dem TierPET durchgeführten Phantomstudien gezeigt, dass die Radioaktivität in einer Zielregion mit einem Durchmesser von 2.5 mm – mithin in der Größenordnung der striatalen Durchmesser auf den für die ROI-Definition verwendeten koronaren Schnittbildern – infolge des Partialvolumeneffektes um etwa 60% unterschätzt wird. Auf der Grundlage dieser Messungen wurden die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen korrigiert; dabei war der verwendete Korrekturfaktor für alle Messungen gleich und wurde nicht individuell für den tatsächlichen striatalen Durchmesser auf den für die ROI-Definition verwendeten koronaren Schnittbildern bestimmt. Im Falle eines Unterschreitens des striatalen Durchmessers von 2.5 mm hätte der verwendete Korrekturfaktor mithin im Vergleich zur partialvolumenunabhängigen autoradiographischen Messung zu einer Unterschätzung der striatalen Radioaktivitätskonzentration geführt. Dies kann bei manchen Tieren der Fall gewesen sein, da die Schnittbilder nicht nur nach Maßgabe der Lokalisation des striatalen Aktivitätsmaximums für die ROI-Definition ausgewählt wurden, sondern dabei auch Sorge getragen wurde, das Spill-over aus der angrenzenden Retroorbitalregion nach Möglichkeit zu minimieren.

Die Genauigkeit unserer Quantifizierung von K_D und B_{max} mit Hilfe der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse hängt von der Richtigkeit der Annahme ab, dass C_2 und C_2' zu einem Kompartiment zusammengefasst werden können. Wir leiten $[L]$ - das heisst, die freie und nicht-spezifisch gebundene Radioligandenkonzentration - aus der kortikalen REF ab. Mithin ergibt sich BP aus $([LR]/[L]) - 1$. $[L]$ entspricht dabei $C_2 + C_2'$; dadurch geht die nicht-spezifisch gebundene Radioligandenkonzentration zusätzlich zur freien Radioligandenkonzentration in den Nenner ein. Infolgedessen wird die Genauigkeit der Parameterschätzung durch die Tatsache beeinträchtigt, dass der freie Ligandenanteil in C_2 , f_2 , nicht exakt bestimmt zu werden vermag. Demnach bestimmten wir in Wahrheit mit unserer Methode $B_{max}' (= f_2 \times B_{max})$ und unterschätzen dadurch B_{max} konsistent. Bei der Diskussion möglicher Fehler bei der Parameter-Schätzung muss jedoch ihr Ausmaß in Relation zu anderen methodeninhärenten Fehlerquellen - wie etwa dem Partialvolumeneffekt - gesehen werden. Für die nicht-spezifische Bindung gilt zudem, dass sie durch gleichermaßen Gewebe- wie Ligandeneigenschaften gekennzeichnet ist. Da diese weder zwischen den Versuchstieren noch über die Zeit variieren, kann $f_2 B_{max}$ als zuverlässiger Schätzwert für den in Rede stehenden Rezeptorparameter betrachtet werden. Dabei hat die *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse gegenüber anderen *in vivo* Verfahren wie dem vereinfachten

Referenzgewebemodell oder dem dynamischen Modell den Vorteil, dass sie $B_{\max}(\cdot)$ und K_D als separate Werte und direkte Maße für Rezeptordichte und Affinität liefert.

Mit SPECT wurde bislang wurde eine DAT-Bindungsstudie bei der Ratte mit [^{123}I]FP-CIT als Radioligand durchgeführt (Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam; Booij et al., 2002). Darüberhinaus wurde die DAT-Bindung mit einer weiteren aufgerüsteten klinischen Kamera (Siemens Orbiter ZLC 3700) und [^{123}I]β-CIT als Radioligand untersucht (Scherfler et al., 2002); in zwei weiteren Studien mit aufgerüsteten Pinhole-SPECTs wurde überdies die D₂-Rezeptorbindung bei der Ratte mit [^{123}I]IBZM beziehungsweise [^{123}I]Epideprid als Radioligand dargestellt (Scherfler et al., 2005, Sohlberg et al., 2005). Ferner existieren drei Studien an Mäusen, die Untersuchung der DAT- und der D₂-Rezeptorbindung mit [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]TRODAT und [^{123}I]FP-CIT beziehungsweise [^{123}I]IBF zum Gegenstand hatten (Acton et al., 2002a, b, Adringa et al., 2005). Diese Untersuchungen wurden mit einer aufgerüsteten klinischen Prism 3000XP (Acton et al., 2002a, b) beziehungsweise dem Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam (Adringa et al., 2005) durchgeführt.

Da auch das Pinhole-SPECT der Universität Amsterdam auf einem klinischen Scanner (ADAC ARC3000) basiert, der mit einem Pinhole-Kollimator aufgerüstet wurde (Habraken et al., 2000), bestand ein Ziel der ersten TierSPECT-Studie darin, zu zeigen, dass die DAT- und die D₂-Rezeptorbindung im Striatum der Ratte mit der völlig anders konfigurierten TierSPECT-Kamera trotz der schlechteren Performance (Auflösung: 2.8 anstelle von 1.34 mm, Sensitivität: 22 anstelle von 735 cps/MBq) reliabel dargestellt und quantifiziert werden kann.

Die vorausgegangenen Studien mit dem TierPET haben gezeigt, dass die Identifikation des Striatums durch Radioaktivitätsakkumulationen in anderen paarigen Regionen des Kopfes, wie etwa den Harnschüsseln, konfundiert sein kann. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn neue Radioliganden evaluiert werden, deren Verteilungsmuster unbekannt sind. Außerdem sind üblicherweise als REFs verwendete Regionen wie das Zerebellum durch eine so geringe DAT- und D₂-Rezeptordichte gekennzeichnet, dass ihre exakte Eingrenzung problematisch ist. Da die reliable Quantifizierung des BP_s von der sorgfältigen Definition sowohl der ROIs als auch der REFs abhängig ist, wurde eine Methode entwickelt, die die Lokalisierung der ROIs und REFs mittels quasi-anatomischer Landmarken erlaubt.

Unsere Studie zeigte, dass TierSPECT- und TierPET-Bilder der Transporter- oder Rezeptorbindung mit [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD-, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tetrofosmin- und [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]HMPAO-Scans überlagert

werden können. [^{99m}Tc]DPD, [^{99m}Tc]Tetrofosmin und [^{99m}Tc]HMPAO liefern dabei quasi-anatomische Informationen, die die Identifikation von Striatum, Kortex und Zerebellum relativ zur Schädelhöhle und zur Lage der Orbitae mit den Harderschen Drüsen erleichtern. Dies ist insbesondere dann von Vorteil, wenn die striatale Radioaktivitätsakkumulation unter DAT- oder D₂-Rezeptorblockade quantifiziert werden soll. Dabei kann eine grobe anatomische Übersicht sogar durch Kombination unterschiedlicher bildgebender Modalitäten wie PET und SPECT erreicht werden.

Die in unserer Studie ermittelten striatozerebellären Quotienten betrugen 2.2 ([^{123}I]FP-CIT), 2 ([^{123}I]IBZM) und 2.8 ([^{18}F]FMB). Die striatozerebellären Quotienten von [^{123}I]FP-CIT und [^{123}I]IBZM liegen in der gleichen Größenordnung wie die zuvor von Booij beziehungsweise Verhoeff und Mitarbeitern für nicht-lädierte Ratten bestimmten Werte (Verhoeff et al., 1991a, Booij et al., 2002). Eine noch bessere Übereinstimmung wurde für [^{18}F]FMB erreicht: unsere Untersuchung mit der Methode der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse hatte ein B_{max} von 16 fmol/mg und einen K_D von 6.2 nM ergeben, was einem BP (= B_{max}/K_D) von 2.6 entspricht.

Ein Vorteil unserer retrospektiven Fusionsmethode ist dabei, dass sie eine nuklearmedizinische Alternative zur morphologischen Koregistrierung mit dedizierten MRT- oder CT-Systemen darstellt. Dies ist umso wichtiger, als mit dem X-SPECT bislang erst ein speziell für Kleintiere entwickeltes System kommerziell erhältlich ist, das die unmittelbare Koregistrierung von SPECT- und CT-Bildern erlaubt (www.gammamedica.com). Eine Limitierung der Fusionsmethode besteht allerdings darin, dass die dreidimensionale Überlagerung in erster Näherung mit der in das MPI-Tool implementierten Fusionsfunktion erfolgte, worauf die Bilder unter manueller Verschiebung in x-, y- und z-Achse bestmöglich zur Deckung gebracht wurden. Überdies stammten die [^{99m}Tc]DPD-, [^{99m}Tc]Tetrofosmin- und [^{99m}Tc]HMPAO-Bilder von anderen Tieren als die [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Scans. Idealerweise sollte die Bildgebung des Knochenstoffwechsels, der Perfusion und der Transporter- beziehungsweise Rezeptorbindung an denselben Tieren erfolgen. Da hierfür zum Zeitpunkt dieser ersten Machbarkeitsstudie keine Tierversuchsgenehmigung vorlag, wurden Ratten des gleichen Alters und Gewichtes verwendet, um die Varianz zwischen den Versuchstieren so gering wie möglich zu halten. Überdies wurden alle Ratten in der nämlichen Kopfhalterung (Institut für Medizin, Forschungszentrum Jülich GmbH) gemessen, um die reproduzierbare Positionierung des Versuchstieres innerhalb des FOVs zu gewährleisten.

3.2. Untersuchungen zu den Regulationsmechanismen der DAergen Synapse

Die meisten der an Kleintieren durchgeführten *in vivo* Untersuchungen wurden an Rattenmodellen für neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Parkinson und Morbus Huntington durchgeführt und hatten die Darstellung der DAT- (Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, Hume et al., 1996, Sullivan et al., 1998, Brownell et al., 1998, Chen et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Björklund et al., 2002, Cicchetti et al., 2002, Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, Inaji et al., 2005) oder D₂-Rezeptorbindung (Torres et al., 1995, Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997, Araujo et al., 2000, Nguyen et al., 2000, Ishiwata et al., 2002a,b, Scherfler et al., 2005, Inaji et al., 2005, Sohlberg et al., 2005) bei lädierten und nicht-lädierten Tieren mit dedizierten PET-Scannern (Torres et al., 1995, Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, Hume et al., 1996, Fricker et al., 1997, Sullivan et al., 1998, Brownell et al., 1998, Chen et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Araujo et al., 2000, Björklund et al., 2002, Cicchetti et al., 2002, Ishiwata et al., 2002a,b, Inaji et al., 2005) oder aufgerüsteten klinischen SPECT-Kameras zum Gegenstand (Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, 2005, Sohlberg et al., 2005). In lediglich zwei Studien wurden DAT- und D₂-Rezeptorbindung nach 6-OHDA-Läsion an denselben Tieren untersucht, wobei die Ergebnisse eine Abnahme der ersteren und eine Zunahme der letzteren zeigten (Nguyen et al., 2000, Inaji et al., 2005). Bislang wurden jedoch noch keine *in vivo* Studien durchgeführt, die die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen synaptischem DA und der prä-/postsynaptischen Transporter-/Rezeptorbindung im Striatum der Ratte zum Inhalt hatten. Entsprechend fanden auch keine *in vivo* Untersuchungen der prä-/postsynaptischen Transporter-/Rezeptorbindung nach pharmakologischen Interventionen statt, die eine Inhibierung des DAT oder des D₂-Rezeptors zum Ziel hatten. Gegenstand der im Folgenden dargestellten *in vivo* Studien war somit

- a) die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte mit PET und [¹⁸F]FMB,
- b) die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach 6-OHDA-induzierter Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen und Reduktion der synaptischen DA-Konzentration mit PET und [¹⁸F]FMB,

- c) die Quantifizierung der DAT-Verfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte mit SPECT und [^{123}I]FP-CIT,
 - d) die Quantifizierung der DAT-Verfügbarkeit mit SPECT und [^{123}I]FP-CIT nach pharmakologischer Blockade mit MP,
 - e) die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte mit SPECT und [^{123}I]IBZM,
 - f) die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit mit SPECT und [^{123}I]IBZM nach pharmakologischer Blockade mit HAL,
 - g) die Quantifizierung der D₂-Rezeptorverfügbarkeit mit SPECT und [^{123}I]IBZM nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit MP
- sowie
- h) die Quantifizierung der DAT-Verfügbarkeit mit SPECT und [^{123}I]FP-CIT nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit HAL.

Tab. 2 und Abb. 26 stellen die Befunde aus diesen Untersuchungen zusammen.

Ein Modell für die Parkinsonsche Krankheit ist die Zerstörung der nigrostriatalen Faserverbindungen der Ratte durch unilaterale Injektion von 6-OHDA in die Pars compacta der Substantia nigra (s. Übersichtsarbeiten von Schwarting & Huston, 1996a, b). Wird ein bestimmter Grad DAerger Denervierung erreicht, kommt es zu einer Reduktion der TH-Aktivität in der präsynaptischen Endigung; entsprechend vermindert sich die DA-Konzentration im synaptischen Spalt und – als kompensatorische Antwort hierauf – die DA-Wiederaufnahme in die präsynaptischen Vesikel (Iversen & Uretsky, 1970). Eine weitere Folge der DAergen Denervation ist die Zunahme der neostriatalen D₂-Rezeptoren auf der Seite der Läsion, die sich innerhalb der ersten Tage nach 6-OHDA-Applikation entwickelt und ihr Maximum nach zwei Wochen erreicht (Ungerstedt, 1991, Staunton et al., 1981, Neve et al., 1982, 1984). Solch ein Anstieg der D₂-

Rezeptordichte ohne eine gleichzeitige Veränderung der Affinität wurde von Ferré und Fuxe auch *in vitro* im kontralateralen Striatum unilateral lädierter Ratten beobachtet (Ferré & Fuxe, 1992). Eine Beteiligung der Gegenseite an den nach der Läsion einsetzenden Erholungsprozessen wird außerdem durch neurochemische Befunde nahe gelegt, die eine bilaterale Zunahme des DA-Metabolismus' im Nuc. accumbens 6-OHDA-lädierter Ratten zeigen (Nikolaus et al., 1997).

Die bislang an 6-OHDA-lädierten Ratten durchgeführten *in vivo* Rezeptorbindungsstudien zeigten sämtlich eine Erhöhung der ipsilateralen D₂-Rezeptorbindung (Hume et al., 1995, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Inaji et al., 2005), während sich die kontralaterale D₂-Rezeptorbindung nicht signifikant von nicht-lädierten Kontrolltieren unterschied (Hume et al., 1995). Entsprechend wurde nach unilateraler OHDA-Läsion auch eine lediglich ipsilaterale Reduktion der DAT-Bindung berichtet (Hume et al., 1995, Opacka-Juffry et al., 1995, 1996, Chen et al., 1997, 1999, Brownell et al., 1998, Sullivan et al., 1998, Rubins et al., 1999, Nguyen et al., 2000, Björklund et al., 2002, Booij et al., 2002, Scherfler et al., 2002, Inaji et al., 2005). Dabei muss jedoch beachtet werden, dass lediglich in der von Hume und Mitarbeitern durchgeführten Studie die kontralaterale D₂-Rezeptorbindung mit der D₂-Rezeptorbindung in nicht-lädierten Kontrolltieren verglichen wurde (Hume et al., 1995). Überdies wurden keine Longitudinaluntersuchungen der ipsi- und kontralateralen D₂-Rezeptorbindung an denselben Tieren durchgeführt. Dies gilt ebenso für den Vergleich der D₂-Rezeptorbindung vor und nach der 6-OHDA-Läsion.

Daher quantifizierten wir in unserer TierPET-Studie mit der Methode der *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse

- a) die D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte

und

- b) die D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach 6-OHDA-induzierter Reduktion der synaptischen DA-Konzentration.

Zur Betrachtung des Zeitverlaufs der 6-OHDA-induzierten Veränderungen der D₂-

Rezeptorverfügbarkeit wurden die Untersuchungen unmittelbar vor der Läsion sowie an Tag 2 und Tag 14 nach der Applikation des Neurotoxins durchgeführt. Diese erste Longitudinaluntersuchung der ipsi- und kontralateralen D₂-Rezeptorbindung an der 6-OHDA-lädierten Ratte zeigte eine zeitabhängige bilaterale Zunahme der B_{max}-Werte von beidseitig 19 an Tag 0 auf ipsilateral 29.9 und kontralateral 28.6 fmol/mg an Tag 14 (Tab. 2). Mit einem K_D von 6.2 nM entspricht dies einem BP (= B_{max}/K_D) von 3 und damit einem V₃'' (= BP – 1) von 2 in der Baseline-Bedingung. An Tag 14 betrugen ipsi- und kontralaterales BP 4.8 beziehungsweise 4.6. Dies entspricht V₃''-Werten von 3.8 beziehungsweise 3.6 (Tab. 5).

Hieraus erhellt, dass die unilaterale DAerge Denervierung langanhaltende bilaterale Einflüsse auf das DAerge System ausübt. Dabei liegt die Annahme nahe, dass die Zunahme der D₂-Rezeptoren die Abnahme an synaptischem DA kompensiert: da auf diese Weise mehr Rezeptoren für die verringerte Anzahl von DA-Molekülen zur Verfügung stehen, kann die DAerge Neurotransmission aufrechterhalten oder sogar gesteigert werden.

Unsere Methode ist insofern neu, als sie die Beobachtung der D₂-Rezeptorbindungskurven über die Zeit erlaubt. Die Anwendung aller übrigen Verfahren erfordert eine Beschränkung auf die Betrachtung der ipsi- zu kontralateralen Unterschiede zu einem bestimmten Zeitpunkt bei einem einzelnen Tier. Im Gegensatz hierzu ermöglicht unser Verfahren die getrennte Betrachtung der ipsi- und kontralateralen 6-OHDA-induzierten Veränderungen. Unser Hinweis auf einen kontralateralen Anstiegs der D₂-Rezeptorbindung unterstreicht dabei die Bedeutung der kontralateralen Hemisphäre für Kompensations- und Erholungsprozesse im 6-OHDA-Modell der Ratte.

Es wird allgemein angenommen, dass der therapeutische Effekt von MP durch die Blockierung des präsynaptischen DATs mediiert wird, die ihrerseits einer Erhöhung der synaptischen DA-Konzentrationen zur Folge hat (s. Übersichtsarbeit von Volkow et al., 2002). Entsprechend konnte nach Langzeitbehandlung mit MP eine Reduktion der DAT-Bindung sowohl bei Patienten mit ADHS (Dresel et al., 2000, Krause et al., 2000) als auch bei normalen Kontrollen (Volkow et al., 1998) nachgewiesen werden. Überdies zeigten Dissektionsstudien eine dosisabhängige Inhibierung der striatalen [^{99m}Tc]TRODAT- (Dresel et al., 1998) und [¹²³I]FP-CIT-Bindung (Reneman et al., 2001) bei der Ratte. Bislang wurde die Wirkung von MP auf die [¹²³I]FP-CIT-Bindung nicht *in vivo* untersucht. Überdies stand die *in vivo* Darstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung aus. Daher quantifizierten wir in unserer TierSPECT-Studie

c) die DAT-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte

und

d) die DAT-Verfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit zwei verschiedenen Dosen von MP.

Für die unbehandelte Ratte ergab sich ein V_3'' von 1.08 (Tab. 2). Nach Vorbehandlung mit zwei verschiedenen MP-Dosen sank der striatale V_3'' -Wert auf 0.56 (3 mg/kg) beziehungsweise 0.24 (10 mg/kg). Mithin zeigt diese erste *in vivo* Untersuchung der DAT-Bindung nach Vorbehandlung mit MP bei der Ratte eine dosisabhängige mittlere Reduktion des striatalen V_3'' -Wertes um ≈ 50 (3 mg/kg) beziehungsweise 80% (10 mg/kg).

Die Affinität von MP für den DAT der Ratte ($K_i = 390$ nM; Ritz et al., 1987) liegt eine Größenordnung über der Affinität von DA ($K_m = 1.63$ μ M; Kitayama et al., 1992). MP kompetitiert mit DA um die DAT-Bindungsstellen; bei Applikation blockiert es dieselben, so dass [123 I]FP-CIT – ungeachtet seiner höheren Affinität ($K_i = 3.5$ nM; Neumayer et al., 1994) – nur noch in verringertem Ausmaß an den DAT zu binden vermag.

Bislang wurde erst eine *in vivo* Untersuchung der D_2 -Rezeptorblockade an Tieren – und zwar an Primaten – durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein Verdrängungsexperiment, bei der HAL nach [123 I]IBZM-Applikation verabreicht wurde (Innis et al., 1992). Die *in vivo* Darstellung der D_2 -Rezeptorverfügbarkeit *nach* Blockade des D_2 -Rezeptors mit HAL im Tierversuch stand bis *dato* aus. Wie zuvor erwähnt, bindet MP an den DAT und erhöht auf diese Weise die DA-Konzentration im synaptischen Spalt. Booij und Mitarbeiter waren die ersten, die die Verdrängung von [123 I]IBZM durch endogenes DA nach Applikation von MP im Humanversuch zeigten (Booij et al., 1997). Die Untersuchung der DAT-Verfügbarkeit *nach* Erhöhung der endogenen DA-Konzentration in Human- oder Tierversuch stand bis *dato* aus. Wir quantifizierten in unserer TierSPECT-Studie

e) die D_2 -Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte,

f) die D_2 -Rezeptorverfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit HAL

sowie

- g) die D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit MP.

Mit TierSPECT und [¹²³I]IBZM als Radioligand ergab sich ein V₃'-Wert von 1.42 bei der unbehandelten Ratte. Dies entspricht einem BP von 2.42, während sich bei der Untersuchung mit TierPET und [¹⁸F]FMB als Radioligand ein BP von 3.1 - entsprechend einem V₃' von 2.1 - ergeben hatte (Tab. 2). Die Vorbehandlung mit HAL und MP führte zu einer Reduktion des V₃'-Wertes auf 0.54 beziehungsweise 0.98. Damit ergab sich in dieser ersten *in vivo* Untersuchung der [¹²³I]IBZM-Bindung bei der Ratte in Konkurrenz mit exogenen und endogenen Liganden eine Reduktion der D₂-Rezeptorbindung um ~ 60 beziehungsweise 30%.

MP blockiert den präsynaptischen DAT und induziert auf diese Weise eine Zunahme der synaptischen DA-Konzentration (s. Übersichtsarbeit von Volkow et al., 2002). Folglich kann die Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung an den striatalen D₂-Rezeptor als Ergebnis der Konkurrenz zwischen [¹²³I]IBZM und endogenem DA interpretiert werden. Dabei muss jedoch in Betracht gezogen werden, dass der K_D-Wert von [¹²³I]IBZM für den D₂-Rezeptor (K_D = 0.28 nM, Verhoeff et al., 1991b; K_D = 1.2 nM, de Paulis et al., 1988) den K_D-Wert von DA (K_D = 7.5 nM, s. Übersichtsarbeit von Seeman & Grigoriadis, 1987) um eine Größenordnung unterschreitet. Aufgrund dieses Unterschiedes in den Affinitäten ist ein komplexer Zusammenhang zwischen der MP-induzierten Zunahme der synaptischen DA-Konzentration und der Reduktion der D₂-Rezeptorbindung zu erwarten. Wir nahmen eine Abschätzung für die MP-induzierte Zunahme der synaptischen DA-Konzentration vor, indem wir die prozentuale Abnahme der exogenen Ligandenbindung mit dem Quotienten der Rezeptoraffinitäten (K_{exo}/K_{endo}) multiplizierten. Dabei ergab sich, dass die Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung mit einer durchschnittlichen Zunahme der synaptischen DA-Konzentration um das Dreifache einherging. In ihrer Anfang 2006 veröffentlichten Studie untersuchten Schiffer und Mitarbeiter die Effekte von MP auf die „extrazelluläre“ und auf die „synaptische“ DA-Konzentration im Striatum der Ratte. Dabei gingen sie von der Annahme aus, dass die Messung der D₂-Rezeptorbindung vor und nach pharmakologischer Challenge eine (indirekte) Aussage über die Veränderung der DA-Konzentration im „synaptischen Kompartiment“ ermöglicht, während durch die Mikrodialyse-

Tab. 2. D₂-Rezeptor- und DAT-Verfügbarkeit *in vivo*. Quantifizierung a) der D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte (mit TierPET und [¹⁸F]FMB), b) der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach 6-OHDA-induzierter Reduktion der synaptischen DA-Konzentration (mit TierPET und [¹⁸F]FMB), c) der DAT-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte (mit TierSPECT und [¹²³I]FP-CIT), d) der DAT-Verfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit zwei verschiedenen Dosen von MP (mit TierSPECT und [¹²³I]FP-CIT), e) der D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte (mit TierSPECT und [¹²³I]IBZM), f) der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit HAL (mit TierSPECT und [¹²³I]IBZM), g) der D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit MP (mit TierSPECT und [¹²³I]IBZM) sowie h) der DAT-Verfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit HAL (mit TierSPECT und [¹²³I]FP-CIT). Angegeben sind die mittleren BPs und V₃''-Werte.

Target	Kamera	Ligand	Bedingung	BP	V ₃ ''
D ₂ -Rezeptor	TierPET	[¹⁸ F]FMB	unbehandelt	3.1 ipsi 3.1 kontra	2.1 ipsi 2.1 kontra
D ₂ -Rezeptor	TierSPECT	[¹²³ I]IBZM	unbehandelt	2.42	1.42
DAT	TierSPECT	[¹²³ I]IFP-CIT	unbehandelt	2.08	1.08
D ₂ -Rezeptor	TierPET	[¹⁸ F]FMB	6-OHDA	4.8 ipsi 4.6 kontra	3.8 ipsi 3.6 kontra
D ₂ -Rezeptor	TierSPECT	[¹²³ I]IBZM	HAL	1.54 1 mg/kg	0.54 1 mg/kg
DAT	TierSPECT	[¹²³ I]IFP-CIT	HAL	1.93 1 mg/kg	0.93 1 mg/kg
D ₂ -Rezeptor	TierSPECT	[¹²³ I]IBZM	MP	1.98 10mg/kg	0.98 10mg/kg
DAT	TierSPECT	[¹²³ I]IFP-CIT	MP	1.56 3mg/kg 1.24 10mg/kg	0.56 3mg/kg 0.24 10mg/kg

sonde unmittelbar die DA-Konzentrationen im „extrazellulären Kompartiment“ abgegriffen wird (Schiffer et al., 2006). Die PET-Untersuchungen mit [¹¹C]Racloprid zeigten nach Behandlung mit MP (5 mg/kg) eine Reduktion der striatalen D₂-Rezeptorbindung um 21%; zusätzlich durchgeführte *in vivo* Mikrodialysestudien ergaben eine mittlere Zunahme der extrazellulären DA-Konzentration um 360%. Dies stellt sowohl qualitativ als auch quantitativ eine Bestätigung unserer Befunde dar.

Die Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung an die striatalen D₂-Rezeptoren nach Vorbehandlung mit HAL kann als D₂-Rezeptorblockade interpretiert werden. Die Affinität von HAL für den D₂-Rezeptor der Ratte (K_D = 1.5 nM; s. Übersichtsarbeit von Seeman & Grigoriadis, 1987) liegt im Bereich der für IBZM (K_D=0.28 nM, Verhoeff et al., 1991b; K_D = 1.2 nM, de Paulis et al., 1988) berichteten Werte; folglich zeigt die Reduktion der [¹²³I]IBZM-Bindung die Konkurrenz zwischen beiden exogenen Liganden an. Die Sachlage wird jedoch durch kontroverse Befunde hinsichtlich der synaptischen Wirkmechanismen von HAL kompliziert.

So erhöhen Neuroleptika Synthese, Metabolismus und Freisetzung von DA im Neo-

früheren Untersuchungen wurde die direkte Kompetiton eines Radioliganden mit HAL oder seine Verdrängbarkeit durch HAL von der DAT-Bindungsstelle untersucht (Cline et al., 1992, Kung et al., 1997, Lavalaye et al., 2000, Scheffel et al., 1996). Ferner wurde in einer *in vivo* Studie an Schweinen die Wirkung der HAL-induzierten Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration auf die postsynaptische D₂-Rezeptorbindung dargestellt (Ishizu et al., 2000). Die direkte oder indirekte Darstellung der HAL-Bindung an die präsynaptischen D₂-Autorezeptoren mit bildgebenden Methoden stand bis *dato* aus; dies galt ebenso für die Wirkung der HAL-induzierten Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration auf die präsynaptische DAT-Bindung. Nach der vorangegangenen Untersuchung der Wirkung von endogenem DA auf die D₂-Rezeptorbindung quantifizierten wir in dieser TierSPECT-Studie

- h) die DAT-Verfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit HAL.

Mit dem TierSPECT und [¹²³I]FP-CIT als Radioligand ergab sich unter Baseline-Bedingungen ein V₃'' von 1.21. Nach Vorbehandlung mit HAL sank V₃'' auf 0.93 (Tab. 2). Mithin zeigt diese Untersuchung der DAT-Bindung nach Vorbehandlung mit HAL bei der Ratte eine mittlere Reduktion des striatalen V₃''-Wertes um ≈ 23%.

Die Reduktion der [¹²³I]FP-CIT-Bindung kann als Ergebnis der Kompetition zwischen [¹²³I]FP-CIT und endogenem DA interpretiert werden. Die vorausgegangene Untersuchung hatte gezeigt, dass Veränderung der synaptischen DA-Konzentrationen mit dem TierSPECT quantifiziert werden können. Hierfür ist jedoch die Kenntnis der Affinitäten K_{exo} und K_{endo} unabdingbar. Bislang wurde jedoch der K_D von [¹²³I]FP-CIT nicht experimentell bestimmt. Bekannt ist lediglich der K_i, der - unter Kompetition mit dem DAT-Liganden GBR12909 - 3.5 nM beträgt (Neumeyer et al., 1994), während für DA bei Verwendung des gleichen Kompetitors ein IC₅₀-Wert von 3.7 nM (Matecka et al., 1996) und bei Verwendung von WIN 35,065-Analoga K_i-Werte zwischen 0.59 und 19 nM berichtet wurden (Kotian et al., 1996). Dies erlaubt keine genaue Einschätzung der Bindungsverhältnisse an der präsynaptischen Endigung. Liegen die Affinitäten des exogenen und des endogenen Liganden in der gleichen Größenordnung, geht eine 23%ige Abnahme der [¹²³I]FP-CIT-Bindung mit einer ebenso hohen Zunahme der synaptischen DA-Konzentration einher. Ist die Affinität von DA für den DAT um eine Größenordnung – einen

Faktor 10 - niedriger, wie der von Rothman und Mitarbeitern mitgeteilte K_m -Wert von 38.8 nM nahe legt (Rothman et al., 1993), so ist eine 23%ige Abnahme der [^{123}I]FP-CIT-Bindung das Ergebnis einer Zunahme des synaptischen DAs auf $\approx 200\%$ der Ausgangskonzentration. Im Augenblick ist jedoch in diesem Zusammenhang auf den vorläufigen Charakter unserer Studie hinzuweisen.

Frühere Mikrodialysestudien haben gezeigt, dass die systemische Applikation von 1 mg/kg HAL im Vergleich zur Baseline zu einer 50%igen Zunahme der synaptischen DA-Konzentration im Striatum der Ratte führte (Pehek, 1999), während eine PET-Untersuchung an Schweinen einen siebenfachen Anstieg der DA-Konzentration bei einer HAL-Infusion mit einer Rate von 3 mg/h ergab (Ishizu et al., 2000). Um die HAL-induzierten Veränderungen der synaptischen DA-Konzentration mit dem TierSPECT quantitativ abschätzen zu können, sind weitere Untersuchungen erforderlich, die entweder TierSPECT- und *in vivo* Mikrodialysemessungen für jedes Tier kombinieren oder Multipinhole-SPECT anwenden. Diese Methode wird gegenwärtig für eine quasi-dynamische Datenakquisition evaluiert (Wirrwar et al., 2003, 2006). Auch die Bestimmung der K_D -Werte von [^{123}I]FP-CIT und [^3H]DA wäre ein wichtiger Schritt in diese Richtung.

Limitierungen der TierSPECT-Studien resultieren aus dem Umstand, dass die für die Identifikation der anatomischen Landmarken verwendeten Überlagerungsbilder mit der in das MPI-Tool implementierten Fusionsfunktion erfolgte, worauf die Bilder durch manuelle Verschiebung in x-, y- und z-Achse bestmöglich zur Deckung gebracht wurden. Beides stellt eine potentielle Fehlerquelle dar, zumal keine zusätzlichen Markierungen auf die Rattenköpfe aufgebracht wurden. Überdies stammte der [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]DPD-Scan von einem anderen Tier als die [^{123}I]FP-CIT- und [^{123}I]IBZM-Bilder, während die Bildgebung des Knochenstoffwechsels idealerweise an denselben Tieren wie die Rezeptorbildgebung erfolgen sollte. Da die ROI-Definition auf einer groben Lokalisierung anatomischer Landmarken beruhte, ist nicht auszuschließen, dass weder die für die ROI-Definition ausgewählten Schichten noch die Positionen derselben für alle Tiere identisch waren. Dies gilt insbesondere für die SPECT-Messungen nach Vorbehandlung mit HAL oder MP, da die striatalen Radioaktivitätskonzentrationen in diesen Fällen erheblich reduziert waren. Infolgedessen ist nicht von der Hand zu weisen, dass Fehler in der Positionierung von ROI oder REF zu Konfundierungen bei der Quantifizierung von V_3' geführt haben. Weitere Fehlerquellen resultieren aus Partialvolumen- (Hume et al., 1996)

und Spill-over-Effekten (Hume et al., 1996, Kuge et al., 1997), die zu Unter- beziehungsweise Überschätzungen der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen führen können. Letzteres ist insbesondere in den frontokortikalen und rostral gelegenen striatalen Arealen der Fall, während Ersteres die Quantifizierung der Radioaktivitätskonzentrationen in dünnen Strukturen wie dem Neokortex und den kaudalen striatalen Anteilen beeinträchtigt. Da in unseren TierSPECT-Studien keine der beiden Korrekturen durchgeführt wurden, sind Konfundierungen bei der Bestimmung der striatalen Radioaktivitätskonzentrationen möglich, während dies bei der Bestimmung der zerebellären Radioaktivitätskonzentrationen unwahrscheinlich ist, da diese Region infolge ihrer Größe keinem der beiden in Rede stehenden Effekte unterliegt.

3.3. Zusammenfassung und Bewertung der Ergebnisse

Unsere Befunde zeigen, dass mit TierPET und TierSPECT *in vivo* Untersuchungen der striatalen D₂-Rezeptor- beziehungsweise DAT-Bindungen durchgeführt werden können. Dies gilt für die normale, unbehandelte Ratte ebenso wie für den Zustand nach 6-OHDA-Läsion oder pharmakologischer Challenge. Für die repetitive Untersuchung der D₂- Rezeptorbindung mit dem TierPET wurde dabei erstmalig die *in vivo* Sättigungsbindungsanalyse eingesetzt, die die separate Quantifizierung von K_D und B_{max} ermöglicht. Mit der retrospektiven Fusionsmethode wurde überdies ein Verfahren entwickelt, dass die Definition von ROIs und REFs relativ zur Lage der Schädelhöhle und zu den Orbitae mit den Harderschen Drüsen erleichtert.

Im Weiteren bestimmten wir die D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte, die D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach 6-OHDA-induzierter Degeneration der nigrostriatalen Faserverbindungen und Reduktion der synaptischen DA-Konzentration, die D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit HAL, die D₂-Rezeptorverfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit MP, die DAT-Verfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte, die DAT-Verfügbarkeit nach pharmakologischer Blockade mit MP sowie die DAT-Verfügbarkeit nach Erhöhung der synaptischen DA-Konzentration durch Vorbehandlung mit HAL. Relativ zur D₂-Rezeptorverfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte ergab sich dabei nach 6-OHDA-Läsion eine Zunahme der D₂-Rezeptorbindung um 55 (ipsilateral) beziehungsweise 49% (kontralateral), während die Vorbehandlung mit HAL (1 mg/kg) eine Reduktion der D₂-Rezeptorbindung um 60% hervorrief. Relativ zur DAT-Verfügbarkeit im Striatum der normalen, unbehandelten Ratte war die DAT-Bindung nach Vorbehandlung mit MP um 50 (3 mg/kg) beziehungsweise 80% (10 mg/kg) reduziert. Die Vorbehandlung mit MP (10 mg/kg) führte auf der postsynaptischen Seite zu einer Reduktion der D₂-Rezeptorbindung um 30%, während sich präsynaptisch durch die Vorbehandlung mit HAL eine Reduktion der DAT-Bindung um 23% ergab.

In der 6-OHDA-lädierten Ratte ist die nigrostriatale DAerge Aktivität auf der lädierten im Vergleich zur intakten kontralateralen Seite reduziert. Ebenso kann eine Verringerung der DAergen Aktivität in den Projektionen zum Globus pallidus angenommen werden, was in einerverstärkten Inhibierung des Thalamus und damit in einer verringerten Aktivierung der

kortikostriale Faserverbindungen resultiert. Aufgrund des asymmetrischen DAergen Inputs in das Neostriatum zeigen die Tiere ab dem ersten Tag nach Neurotoxin-Applikation ipsilaterale Verhaltensasymmetrien (s. Übersichtsarbeit von Schwarting & Huston, 1996a,b). Unsere Befunde zeigen, dass die Reduktion an synaptisch verfügbarem DA durch eine Zunahme der postsynaptischen D₂-Rezeptoren kompensiert wird. Ebenso kommt es kontralateral zu einer Hochregulation der D₂-Rezeptoren, was die Bedeutung der intakten Hemisphäre für Kompensations- und Erholungsprozesse im 6-OHDA-Modell der Ratte unterstreicht.

MP führt (dosisabhängig) zu einer DAT-Blockade, die ihrerseits eine Erhöhung der DA-Konzentration im synaptischen Spalt induziert. Hierdurch wird allgemein eine gesteigerte DAerge Neurotransmission im Striatum hervorgerufen. DA seinerseits übt eine exzitatorische Wirkung auf die striatalen Neurone, die „direkte“ GABA/SPerge Projektionen zu Globus pallidus internus und Pars reticulata der Substantia nigra entsenden, während es die striatalen Neurone inhibiert, die auf dem „indirekten“ Weg GABA/enkephalinerg zum Globus pallidus externus projizieren (Hirata et al., 1984, Hirata & Mogenson, 1984, Hong et al., 1985, Pan et al., 1985, Young et al., 1986, Bouras et al., 1986). Die Folge ist eine Verstärkung der vom Neokortex ausgehenden Aktivierung des striato-thalamo-kortikalen Kreislafs, die auf der Verhaltensebene ihren Ausdruck in einer gesteigerten lokomotorischen Aktivität findet (s. Übersichtsarbeit von Westlind-Danielsson, 1994).

HAL übt eine D₂-rezeptorantagonistische Wirkung aus; dabei ist auf den striatalen Neuronen überwiegend die D_{2L}-Isoform exprimiert (Khan et al., 1998). Da diese Variante vornehmlich auf den GABAergen Neuronen in Erscheinung tritt, kann sowohl eine verringerte exzitatorische Wirkung auf die „direkten“ als auch eine verringerte inhibitorische Wirkung auf die „indirekten“ GABAergen Faserverbindungen angenommen werden. Die Folge ist zum einen eine reduzierte Aktivierung des striato-thalamo-kortikalen Kreislafs, die auf Verhaltensebene unter anderem eine verringerte lokomotorische Aktivität hervorruft. Zum anderen jedoch induziert die Blockade der präsynaptischen D₂-Autorezeptoren eine Inhibition der negativen Feedback-Kontrolle, die ihrerseits zu einer Steigerung der DA-Synthese und/oder -Freisetzung führt.

Die MP-induzierte DAT-Blockade konnte in den beschriebenen Experimenten durch die (dosisabhängige) Reduktion der [¹²³I]FP-CIT-Bindung quantifiziert werden. Das Nämliche gilt für die HAL-induzierte D₂-Rezeptorblockade, die durch die Reduktion der striatalen [¹²³I]IBZM-

Bindung augenfällig wurde. Die Zunahme an synaptischem DA führt postsynaptisch zu einer Reduktion der verfügbaren D₂-Rezeptoren und präsynaptisch zu einer Reduktion der verfügbaren DATs; entsprechend zeigten unsere Ergebnisse eine Reduktion der [¹²³I]IBZM- und [¹²³I]FP-CIT-Bindung nach Vorbehandlung mit MP beziehungsweise HAL. Eine Quantifizierung der Veränderungen der synaptischen DA-Konzentrationen ist auf der Grundlage des vorhandenen Datenmaterials nur eingeschränkt möglich.

Unser nächstes Ziel ist die Entwicklung eines mathematischen Modells, dass die Quantifizierung der Veränderungen der synaptischen DA-Konzentrationen anhand der DAT- und D₂-Rezeptorbindungsdaten ermöglicht. Dies kann durch Applikation unterschiedlicher MP-beziehungsweise HAL-Dosen und zum einen *in vivo* Mikrodialyse, zum anderen Messung der [¹²³I]FP-CIT und [¹²³I]IBZM-Bindung mit einer aufgerüsteten Pinhole-SPECT-Kamera erfolgen, die eine quasi-dynamische Bildgebung und damit die Bestimmung der striatalen Radioligandenkonzentrationen im zeitlichen Verlauf ermöglicht. Dabei ist aus der Korrelierung der im synaptischen Spalt gemessenen DA-Konzentrationen mit den zu den gleichen Zeiten ermittelten V₃''-Werten eine Erhellung des quantitativen Zusammenhangs zwischen endogenem DA und exogener Ligandenbindung zu erwarten. Entsprechende Ansätze zur Quantifizierung der endogenen Neurotransmitterfreisetzung werden zur Zeit im übrigen auch für die Kleintier-PET entwickelt (Morris et al., 2005).

Bildgebende Untersuchungen der prä- und/oder postsynaptischen Endigung sind nicht nur für die *in vivo* Evaluierung neuer Radioliganden sondern auch für die *in vivo* Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Rezeptor- und/oder Transporterbindung und Veränderungen in der endogenen DA-Konzentration von zukunftsweisender Bedeutung. Dies betrifft zum einen Tiermodelle für das ADHS, das durch eine Dysregulation der synaptischen DA-Konzentration gekennzeichnet ist. Überdies können mit dieser Methode an Tiermodellen für neurodegenerative Erkrankungen wie etwa Morbus Parkinson Langzeituntersuchungen von Prozessen durchgeführt werden, die mit der Depletion und Erholung synaptischer DA-Konzentrationen in Zusammenhang stehen. Dies gilt ebenso für die Untersuchung kompensatorischer Mechanismen wie etwa die Entwicklung von Rezeptorsupersensitivität, die nach neurotoxischer Läsion der nigrostriatalen Faserverbindungen in Erscheinung tritt. Eine interessante Perspektive ist zudem die aufeinanderfolgende *in vivo* Untersuchung verschiedener Neurotransmittersysteme an derselben Ratte, die über die DAerge Synapse hinaus Einblicke in das Ineinandergreifen

zerebraler Regulationsmechanismen bietet.

Mitte der achtziger Jahre beschrieben Wong und Mitarbeiter einen Anstieg der D₂-Rezeptorbindung bei schizophrenen Patienten (Wong et al., 1985). Bei dieser Erkrankung stellt die Blockade der D₂-Rezeptoren mit Neuroleptika wie Haloperidol die Behandlung der Wahl dar. „Non-Responder“ weisen dabei zwar einen hohen Anteil an besetzten D₂-Rezeptoren auf, zeigen jedoch kein Abklingen der Symptome. Im Lichte unserer hier dargestellten und anderer *in vivo* Befunde (Moghaddam & Bunney, 1990, Pehek, 1994, Pehek & Yamamoto, 1999, Ishizu et al., 1999) erscheint es möglich, dass die präsynaptische Autorezeptorfunktion bei diesen Patienten gestört ist. Auch die Tatsache, dass nicht alle der von uns untersuchten Ratten nach Vorbehandlung mit HAL eine Abnahme der DAT-Bindung zeigten (Abb. 25), ist in diesem Zusammenhang von großem Interesse und unterstreicht die Forderung nach einer weitergehenden Untersuchung der HAL-induzierten Effekte auf prä- wie postsynaptischer Seite.

4. Literaturverzeichnis

A

Abi-Dargham A, Gandelman MS, De Erausquin C et al. SPECT imaging of dopamine transporters in human brain with iodine-123-fluoroalkyl analogs of β -CIT. J Nucl Med 1996;37:1129-33.

Abi-Dargham A, Simpson N, Kegeles L et al. PET studies of binding competition between endogenous dopamine and the D1 radiotracer [11C]NNC 756. Synapse 1999;32:93-109.

Acton P, Choi SR, Plössl K, Kung HF. Quantification of dopamine transporters in the mouse brain using ultra-high resolution single-photon emission tomography. Eur J Nucl Med 2002a; 29:691-8.

Acton PD, Hou C, Kung MP et al. Occupancy of dopamine D2 receptors in the mouse brain measured using ultra-high-resolution single-photon emission tomography and [123]IBF. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2002b;29:1507-15.

Adey WR, Merrillees NRC, Sunderland S. The entorhinal areas; behavioral, evoked potential, and histological studies of its interrelationships with brain-stem regions. Brain 1956;79:414-39.

Aggleton JP, Friedman DP, Mishkin M. A comparison between the connections of the amygdala and hippocampus with the basal forebrain in the macaque. Exp Brain Res 1987; 67:556-68.

Akiyama H, McGeer PL. Microglial response to 6-hydroxydopamine-induced substantia nigra lesions. Brain Res 1989; 489:247-53.

Albanese A. Extrapyramidal system, motor ganglia and movement disorders. Rev Neurosci 1990; 2:145-63.

Alexoff DL, Vaska P, Marsteller D et al. Reproducibility of ^{11}C -raclopride binding in the rat brain measured with the microPET R4: effects of scatter correction and tracer specific activity. *J Nucl Med* 2003;44:815-22.

Anderson, D.F., Charpak, G., von Gagern, C., Majewski, S.: Recent developments in BaF_2 scintillator coupled to a low-pressure wire chamber. *Nucl Instrum Meth* 1984;225:8-12.

Andringa G, Drukarch B, Bol JGJM et al. Pinhole SPECT imaging of dopamine transporters correlates with dopamine transporter immunohistochemical analysis in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Neuroimage* 2005;26:1150-58.

Anger HO. Scintillation camera. *Rev S Instr* 1958;29:27-33.

Angulo JA, Coirini H, Ledoux M, Schumacher M. Regulation by dopaminergic neurotransmission of dopamine D2 mRNA and receptor levels in the striatum and nucleus accumbens of the rat. *Brain Res Mol Brain Res* 1991;11:161-6.

Antoni G, Omura H, Bergström M, et al. Synthesis of L-2,4-diamino[4- ^{11}C]butyric acid and its use in some in vitro and in vivo tumour models. *Nucl Med Biol* 1997;24:595-601.

Antonini A, Leenders KL. Dopamine D2 receptors in normal human brain: effect of age measured by positron emission tomography (PET) and [^{11}C]-raclopride. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 695:81-5.

Antonini A, Schwarz J, Oertel WH et al. [^{11}C]raclopride and positron emission tomography in previously untreated patients with Parkinson's disease: influence of L-dopa and lisuride therapy on striatal dopamine D₂-receptors. *Neurology* 1994; 44:1325-1329.

Antonini A, Vontobel P, Psylla M et al. Complementary positron emission tomographic studies of the striatal dopaminergic system in Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1995;52:1183-90.

Aoyama T, Sasaki T, Kotaki H et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of (+)-threo-methylphenidate enantiomer in patients with hypersomnia. *Clin Pharmacol Ther* 1994;55:270-6.

Araujo DM, Cherry SR, Tatsukawa KJ, Toyokuni T, Kornblum HI. Deficits in striatal dopamine D₂ receptors and energy metabolism detected by in vivo microPET imaging in a rat model of Huntington's disease. *Exp Neurol* 2000; 166:287-97.

Arnett CD, Shiue CY, Wolf AP, Fowler JS, Logan J, Watanabe M. Comparison of three 18F-labeled butyrophenone neuroleptic drugs in the baboon using positron emission tomography. *J Neurochem* 1985;44:835-844.

Arnsten AF, Cai JX, Steere JC, Goldman-Rakic PS. Dopamine D₂ receptor mechanisms contribute to age-related cognitive decline: the effects of quinpirole on memory and motor performance in monkeys. *J Neurosci* 1995;15:3429-39.

Autelitano DJ, Snyder L, Sealfon SC, Roberts JL. Dopamine D₂-receptor messenger RNA is differentially regulated by dopaminergic agents in rat anterior and neurointermediate pituitary. *Mol Cell Endocrinol* 1989;67:101-5.

B

Baldwin RM, Zea-Ponce Y, Al-Tikriti MS et al. Regional brain uptake and pharmacokinetics of [123]N-w-fluoroalkyl-2b-carboxy-3b-(4-iodophenyl)nortropine esters in baboons. *Nucl Med Biol* 1995;22:211-9.

Bartholini G, Richards JG, Fletscher A. Dissociation between biochemical and ultra-structural effects of 6-hydroxydopamine in rat brain. *Experientia* 1970;26:142-4.

Baudry M, Martres MP, Schwartz JC. In vivo binding of 3H-pimozide in mouse striatum: effects of dopamine agonists and antagonists. *Life Sci* 1977;21:1163-70.

Bauer A, Holschbach MH, Cremer M et al. Evaluation of 18F-CFPX, a novel adenosine A1 receptor ligand: in vitro autoradiography and high-resolution small animal PET. J Nucl Med 2003;44:1682-9.

Bauer A, Langen KJ, Bidmon H et al. 18F-CFPX PET identifies changes in cerebral A1 adenosine receptor density caused by glioma invasion. J Nucl Med 2005;46:450-4.

Baunez C, Nieoullon A, Amalric M. Dopamine and complex sensorimotor integration: further studies in a conditioned motor task in the rat. Neuroscience 1995;65:375-84.

Baunez C, Robbins TW. Effects of dopamine depletion of the dorsal striatum and further interaction with subthalamic nucleus lesions in an attentional task in the rat. Neuroscience 1999;92:1343-56.

Beal MF. Neurochemistry and toxin models in Huntington's disease. Curr Opin Neurol 1994; 7:542-7.

Beckstead RM, Frankfurter A. The distribution and some morphological features of substantia nigra neurons that project to the thalamus, superior colliculus and pedunculopontine nucleus in the monkey. Neuroscience 1982;7: 2377-88.

Beckstead RM. Long collateral branches of substantia nigra pars reticulata axons to thalamus, superior colliculus and reticular formation in monkey and cat. Multiple retrograde neuronal labeling with fluorescent dyes. Neuroscience 1983;10:767-79.

Beekman FJ, van der Have F, Vastenhouw B. U-SPECT-I: A novel system for sub-mm resolution tomography of radiolabeled molecules in mice. J Nucl Med 2005; 46: 1194-200.

Benamer HT, Patterson J, Wyper DJ, Hadley DM, Macphee GJ, Grosset DG. Correlation of Parkinson's disease severity and durations with 123I-FP-CIT striatal uptake. Mov Disord 2000; 15:692-8.

Benamer HT, Oertel WH, Patterson J et al. Prospective study of presynaptic dopaminergic imaging in patients with mild parkinsonism and tremor disorders: Part 1. Baseline and 3-month-observations. *Mov Disord* 2003; 18:977-84.

Bennett ER, Kanner BI. The membrane topology of GAT-1, a (Na⁺ + Cl⁻)-coupled gamma-aminobutyric acid transporter from rat brain. *J Biol Chem*. 1997;272:1203-10.

Bennett JP Jr, Wooten GF. Dopamine denervation does not alter in vivo 3H-spiroperone binding in rat striatum: implications for external imaging of dopamine receptors in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1986;19:378-83.

Benoit-Marand M, Jaber M, Gonon F. Release and elimination of dopamine in vivo in mice lacking the dopamine transporter: functional consequences. *Eur J Neurosci* 2000;12:2985-92.

Benoit-Marand M, Borrelli E, Gonon F. Inhibition of dopamine release via presynaptic D2 receptors: time course and functional characteristics in vivo. *J Neurosci* 2001;21:9134-41.

Berger F, Lee YP, Loening AM et al. Whole-body skeletal imaging in mice utilizing microPET: optimization of reproducibility and applications in animal models of bone disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002;29:1225-36.

Berger M, Sperk G, Hornykiewicz O. Serotonergic denervation partially protects rat striatum from kainic acid toxicity. *Nature* 1982;299:284-6.

Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F. Brain dopamine and the syndrome of Parkinson and Huntington. *J Neurol Sci* 1973;20: 415-55.

Bertorello AM, Hopfield JF, Aperia A, Greengard P. Inhibition by dopamine of (Na⁺)+K⁺)ATPase activity in neostriatal neurons through D1 and D2 dopamine receptor synergism. *Nature* 1990;347:386-8.

Besson MJ, Girault JA, Spampinato U et al. Modulation by dopamine and dopaminergic agonists of ^3H -GABA released from striatal and nigrothalamic GABAergic neurons. In: Sandler M (Ed.), Neurotransmitter interactions in the basal ganglia. Raven Press, New York, 1987;143-53.

Bevan P. Repeated apomorphine treatment causes behavioural supersensitivity and dopamine D2 receptor hyposensitivity. *Neurosci Lett* 1983;35:185-9.

Bischoff S, Gunst F. Distinct binding patterns of [^3H]raclopride and [^3H]spiperone at dopamine D2 receptors in vivo in rat brain. Implications for pet studies. *J Recept Signal Transduct Res* 1997;17:419-31.

Björklund A, Lindvall O. Dopamine in dendrites of substantia nigra neurones: suggestions for a role in dendritic terminals. *Brain Res* 1975; 83:531-7.

Björklund LM, Sanchez-Pernate R, Chung S et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *PNAS* 2002; 99:2344-9.

Blaschko H. Metabolism of epinephrine and norepinephrine. *Pharmacol Rev* 1954;6:23-8.

Bloom FE, Algeri S, Gropetti A, Revuelta A, Costa E. Lesions of central norepinephrine terminals with 6-OH-dopamine: biochemistry and fine structure. *Science* 1969;166:1284-6.

Bloomfield PM, Rajeswaran S, Spinks TJ et al. The design and physical characteristics of a small animal positron emission tomograph. *Phys Med Biol* 1995; 40:1105-26.

Bogdansky DF, Weissbach H, Udenfried S. The distribution of serotonin, 5-hydroxytryptophan decarboxylase, and monoamine oxidase in brain. *J Neurochem* 1957;1: 272-8.

Booij J, Andringa G, Rijks LJ et al. [^{123}I]FP-CIT binds to the dopamine transporter as assessed by biodistribution studies in rats and SPECT studies in MPTP-lesioned monkeys. *Synapse* 1997;27:183-90.

Booij J, Korn P, Linszen DH, van Royen EA. Assessment of endogenous dopamine release by methylphenidate challenge using iodine-123 iodobenzamide single-photon emission tomography. *Eur J Nucl Med* 1997;24:674-7.

Booij J, Busemann Sokole E, Stabin MG, Janssen AG, de Bruin K, van Royen EA. Human biodistribution and dosimetry of [123I]FP-CIT: a potent radioligand for imaging of dopamine transporters. *Eur J Nucl Med* 1998;25:24-30.

Booij J, Hemelaar JTGM, Speelman JD, de Bruin K, Janssen AGM, van Royen EA. One-day protocol for imaging of the nigrostriatal pathway in Parkinson's disease by [123I]FP-CIT. *J Nucl Med* 1999; 40:753-61.

Booij J, de Bruin K, Habraken JB et al. Imaging of dopamine transporters in rats using high-resolution pinhole single-photon emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002;29:1221-4.

Boulay D, Duterte-Boucher D, Nouel D, Costentin J. Locomotor sensitization to [D-Trp(11)]neurotensin after repeated injections of the dopamine uptake inhibitor GBR12783 in rats. *Neurosci Lett* 1996;208:5-8.

Breier A, Su TP, Saunders R, Carson RE et al. Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:2569-74.

Breese GR, Duncan GE, Napier TC, Bondy SC, Iorio LC, Mueller RA. 6-Hydroxydopamine treatments enhance behavioral responses to intracerebral microinjection of D1- and D2-dopamine agonists into nucleus accumbens and striatum without changing dopamine antagonist binding. *J Pharmacol Exp Ther* 1987;240:167-76.

Brix, G., Zaers J., Adam L.E., Belleman, M.E., Ostertag, H., Trojan, H., Haberkorn, U., Doll, J., Oberdorfer, F., Lorenz, W.J. Performance evaluation of a whole-body PET scanner using the NEMA protocol. *J Nucl Med* 1997; 38:1614-23.

Brodal A. *Neurological anatomy in relation to clinical medicine*. New York, London, Toronto, Oxford University Press, 1981.

Brownell AL, Kano M, McKinsty RC, Moskowitz MA, Rosen BR, Brownell GL. PET and MR studies of experimental focal stroke. *J Comput Assist Tomogr* 1991; 15:376-80.

Brownell AL, Hantraye P, Wullner U et al. PET- and MRI-based assessment of glucose utilization, dopamine receptor binding, and hemodynamic changes after lesions to the caudate-putamen in primates. *Exp Neurol* 1994; 125:41-51.

Brownell AL, Livni E, Galpern W, Isacson W. In vivo PET imaging in rat of dopamine terminals reveals functional neural transplants. *Ann Neurol* 1998; 43:387-90.

Brownell GL, Burnham CA, Sterns CW, Chesler DA, Brownell AL, Palmer MR. Developments in high-resolution positron emission tomography at MGH. *Intern J Imag Sys Technol* 1989; 1:207-17.

Brücke T, Tsai YF, McLellan C et al. In vitro binding properties and autoradiographic imaging of 3-iodobenzamide (¹²⁵I)-IBZM): a potential imaging ligand for D₂ dopamine receptors in SPECT. *Life Sciences* 1988;42:2097-2104.

Brücke T, Podreka I, Angelberger P et al. Dopamine D₂ receptor imaging with SPECT: studies in different neuropsychiatric diseases. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991;11:220-8.

Bryan-Lluka LJ, Siebert GA, Pond SM. Potencies of haloperidol metabolites as inhibitors of the human noradrenaline, dopamine and serotonin transporters in transfected COS-7 cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1993;360:109-15.

Bouras C, Schulz P, Constantinis J, Tissot R. Differential effects of acute and chronic administration of haloperidol on substance P and enkephalins in diverse rat brain areas. *Biol Psychiat* 1986; 16:169-74.

Buck KJ, Amara SG. Chimeric dopamine-norepinephrine transporters delineate structural domains influencing selectivity for catecholamines and 1-methyl-4-phenylpyridinium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:12584-8.

Bunney BS, Walters JR, Roth RH, Aghajanian GK. Dopaminergic neurons: effect of antipsychotic drugs and amphetamine on single cell activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1973;185:560-71.

Burnham CA, Kaufman DE, Chesler DA, Stearns CW, Correia JA, Brownell GL. A low-Z PET detector. *IEEE Trans Nucl Sci.* 1990; 37:832-4.

C

Caine SB, Koob GF. Modulation of cocaine self-administration in the rat through D-3 dopamine receptors. *Science* 1993;260:1814-6.

Callaway CW, Kuczenski R, Segal DS. Reserpine enhances amphetamine stereotypies without increasing amphetamine-induced changes in striatal dialysate dopamine. *Brain Res* 1989;505:83-90.

Campbell BM, Gresch PJ, Walker PD. Neonatal dopamine depletion reveals a synergistic mechanism of mRNA regulation that is mediated by dopamine(D1) and serotonin(2) receptors and is targeted to tachykinin neurons of the dorsomedial striatum. *Neuroscience* 2001;105:671-80

Carboni E, Silvagni A. Experimental investigations on dopamine transmission can provide clues on the mechanism of the therapeutic effect of amphetamine and methylphenidate in ADHD.

Neural Plast 2004;11:77-95.

Carboni E, Tanda GL, Frau R, Di Chiara G. Blockade of the noradrenaline carrier increases extracellular dopamine concentrations in the prefrontal cortex: evidence that dopamine is taken up in vivo by noradrenergic terminals. *J Neurochem* 1990;55:1067-70.

Carlsson A. The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol Rev* 1959;11: 490-3.

Carlsson A, Lindqvist M. Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol* 1963;20:140-4.

Carlsson A. Dopaminergic atoreceptors. In: Chemical tools in catecholamine research, Vol. II. Almgren O, Carlsson A, Engel J (Eds.). North-Holland Publishing Co, Amsterda, 1975;219-25.

Carpenter MB, Nakano K, Kim R. Nigrothalamic projections in the monkey demonstrated by autoradiographic techniques. *J Comp Neurol* 1976;165: 401-16.

Carpenter MB. Anatomy of the corpus striatum and brain stem integrating systems. In: Brookhart JM, Mountcastle VB, Brooks VB (Eds.), *Handbook of physiology, Section I: The nervous system*, Vol. 2. American Physiological Society, Bethesda, 1981;947-95.

Carson RE, Breier A, de Bartolomeis A et al. Quantification of amphetamine-induced changes in [¹¹C]raclopride binding with continuous infusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17:437-47.

Casey ME, Nutt R. A multicrystal two-dimensional BGO detector system for positron emission tomography. *IEEE Trans Nucl Sci.* 1986;NS-33:460-3.

Castellanos FX. Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clin Pediatr* 1997;36:381-93.

Chalon S, Edmond P, Bodard S et al. Time course of changes in striatal dopamine transporters and D₂ receptors with specific iodinated markers in a rat model of Parkinson's disease. *Synapse* 1999; 31:134-139.

Chaly T, Dhawan V, Kazumata K et al. Radiosynthesis of [18F]N-3-fluoropropyl-2-...beta...-carboxy-methoxy-3-β-4-iodophenyl)nortropane and the first human study with positron emission tomography. *Nucl Med Biol* 1996;23:999-1004.

Chan YP, Swanson JM, Soldin SS, Thiessen JJ, Macleod SM, Logan W. Methylphenidate hydrochloride given with or before breakfast: II. Effects on plasma concentration of methylphenidate and ritalinic acid. *Pediatrics* 1983;72:56-9.

Chatziioannou AF, Cherry SR, Shao Y et al. Performance evaluation of microPET: a high-resolution lutetium oxyorthosilicate PET scanner for animal imaging. *J Nucl Med* 1999; 40:1164-75.

Chatziioannou A, Tai YC, Doshi N, Cherry SR. Detector development for microPET II: a 1 ?l resolution PET scanner for small animal imaging. *Phys Med Biol* 2001; 46:2899-910.

Chatziioannou AF. Molecular imaging of small animals with dedicated PET tomographs. *Eur J Nucl Med* 2002; 29:98-114.

Cheah TB, Geffen LB, Jarrott B, Ostberg A. Action of 6-hydroxydopamine on lamb sympathetic ganglia, vas deferens and adrenal medulla: A combined histochemical, ultrastructural and biochemical comparison with the effects of reserpine. *Brit J Pharmacol* 1971;42:543-57.

Chen C, Lokhandwala MF. Inhibition of Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase in rat renal proximal tubules by dopamine involved DA-1 receptor activation. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1993;347:289-95.

Chen IY, Wu JC, Min JJ, Sundaresan G, Lewis X, Liang Q, Herschman HR, Gambhir SS. Micro-

positron emission tomography imaging of cardiac gene expression in rats using bicistronic adenoviral vector-mediated gene delivery. *Circulation*. 2004;109:1415-20.

Chen L, Nohara R, Hirai T et al. Effects of exercise training on myocardial fatty acid metabolism in rats with depressed cardiac function induced by transient ischemia. *Jpn Circ J* 2001;65:550-5.

Chen X, Park R, Tohme M, Shahinian AH, Bading JR, Conti PS. MicroPET and autoradiographic imaging of breast cancer alpha v-integrin expression using ¹⁸F- and ⁶⁴Cu-labeled RGD peptide. *Bioconjug Chem*. 2004a;15:41-9.

Chen X, Park R, Hou Y, Khankaldyian V et al. MicroPET imaging of brain tumor angiogenesis with (¹⁸F)-labeled PEGylated RGD peptide. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004b;31:1081-9.

Chen X, Park R, Hou Y, Tohme M, Shahinian AH, Bading JR, Conti PS. MicroPET and autoradiographic imaging of GRP receptor expression with ⁶⁴Cu-DOTA-[Lys3]bombesin in human prostate adenocarcinoma xenografts. *J Nucl Med*. 2004c;45:1390-7.

Chen YCI, Galpern WR, Brownell AL et al. Detection of dopaminergic neurotransmitter activity using pharmacologic MRI: correlation with PET, microdialysis, and behavioral data. *Magn Reson Med* 1997; 38:389-98.

Chen YI, Brownell AL, Galpern W et al. Detection of dopaminergic cell loss and neural transplantation using pharmacological MRI, PET and behavioral assessment. *Neuroreport* 1999; 10:2881-6.

Cheney DL, LeFevre HF, Racagni G. Choline acetyltransferase activity and mass fragmentographic measurement of acetylcholine in specific nuclei and tracts of rat brain. *Neuropharmacol* 1975;14:801-9.

Cheng YF, Paalzow LK, Bondesson U et al. Pharmacokinetics of haloperidol in psychotic patients. *Psychopharmacology* 1987;91:410-4.

Cheon KA, Ryu YH, Kim YK, Namkoong K, Kim CH, Lee JD. Dopamine transporter density in the basal ganglia assessed with [¹²³I]IPT SPET in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:306-11.

Chéramy A, Romo R, Godeheu G, Baruch P, Glowinski J. In vivo presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus. II. Facilitory or inhibitory influence of L-glutamate. *Neuroscience* 1986;9:1081-90.

Chergui K, Suaud-Chagny MF, Gonon F. Nonlinear relationship between impulse flow, dopamine release and dopamine elimination in the rat brain in vivo. *Neuroscience* 1994;62:641-5.

Chergui K, Nomikos GG, Mathe JM, Gonon F, Svensson TH. Burst stimulation of the medial forebrain bundle selectively increase Fos-like immunoreactivity in the limbic forebrain of the rat. *Neuroscience* 1996;72:141-56.

Cherry SR, Yiping S, Siegel S et al. Optical fiber readout of scintillator arrays using a multi-channel PMT: a high resolution PET detector for animal imaging. *IEEE Trans Nucl Sci* 1996; 43:1932-7.

Chio CL, Lajiness ME, Huff RM. Activation of heterologously expressed D3 dopamine receptors: comparison with D2 dopamine receptors. *Mol Pharmacol* 1994a;45:51-60.

Chio CL, Drong RF, Riley DT, Gill GS, Slightom JL, Huff RM. D4 dopamine receptor-mediated signaling events determined in transfected Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1994b;269:11813-9.

Chiodo LA, Bunney BS. Typical and atypical neuroleptics: differential effects of chronic administration on the activity of A9 and A10 midbrain dopaminergic neurons. *J Neurosci* 1983;3:1607-19.

Choi SR, Magata Y, Saji H et al. Effect of ginseng pretreatment on cerebral glucose metabolism in ischaemic rats using animal positron emission tomography (PET) and [^{18}F]-FDG. *Phytother Res* 1997; 11:437-40.

Choong WS, Moses WW, Tindall CS et al. Design for a high-resolution small-animal SPECT system using pixellated Si(Li) detectors for in vivo ^{125}I imaging. *IEEE Trans Nucl Sci*. 2003; 50: 6.

Chouker M, Tatsch K, Linke R, Pogarell O, Hahn K, Schwarz J. Striatal dopamine transporter binding in early to moderately advanced Parkinson's disease: monitoring of disease progression over 2 years. *Nucl Med Commun* 2001; 22:721-5.

Christian BT, Narayanan TK, Shi B, Mukherjee J. Quantitation of striatal and extrastriatal D2 dopamine receptors using PET imaging of [^{18}F]fallypride in nonhuman primates. *Synapse* 2000;38:71-79.

Cicchetti F, Brownell AL, Williams K, Chen YI, Livni E, Isacson O. Neuroinflammation of the nigrostriatal pathway during progressive 6-OHDA dopamine degeneration in rats monitored by immunohistochemistry and PET imaging. *Eur J Neurosci* 2002; 15:991-8.

Ciliax BJ, Heilman C, Demchyshyn LL et al. The dopamine transporter: immunochemical characterization and localization in brain. *J Neurosci* 1995;15:1714-23.

Cline EJ, Scheffel U, Boja JW et al. In vivo binding of [^{125}I]RTI-55 to dopamine transporters: pharmacology and regional distribution with autoradiography. *Synapse* 1992;12:37-46.

Cohen AI, Todd RD, Harmon S, O'Malley KL. Photoreceptors of mouse retinas possess D4 receptors coupled to adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:12093-7.

Coenen HH, Dutschka K, Müller SP, Geworski L, Farahti J, Reiners C. Radiosynthesis of [^{123}I , ^{125}I]-CIT, plasma analysis and pharmacokinetic studies with SPECT and PET. *Nucl Med Biol* 1995;22:977-94.

Congar P, Bergevin A, Trudeau LE. D2 receptors inhibit the secretory process downstream from calcium influx in dopaminergic neurons: implication of K⁺ channels. *J Neurophysiol* 2002;87:1046-56.

Conrad LC, Pfaff DW. Autoradiographic tracing of nucleus accumbens efferents in the rat. *Brain Res.* 1976; 113:589-96.

Correia JA, Burnham CA, Kaufman D, Fischman AJ Development of a small animal PET imaging device with resolution approaching 1 mm. *IEEE Trans Nucl Sci* 1999; 46:631-5.

Cragg SJ, Greenfield SA. Differential autoreceptor control of somatodendritic and axon terminal dopamine release in substantia nigra, ventral tegmental area, and striatum. *J Neurosci* 1997;17:5738-46.

Creese I, Burt DR, Snyder SH. Dopamine receptor binding enhancement accompanies lesion-induced behavioral supersensitivity. *Science* 1977;197:596-8.

Creese I, Burt DR, Snyder SH. Dopamine receptor binding enhancement accompanies lesion-induced behavioral supersensitivity. *Science* 1977;197:596-8.

Creese I, Snyder SH. Nigrostriatal lesions enhance striatal 3H-apomorphine and 3H-spiroperidol binding. *Eur J Pharmacol* 1979;56:277-81.

Croteau E, Benard F, Cadorette J et al. Quantitative gated PET for the assessment of left ventricular function in small animals. *J Nucl Med.* 2003;44:1655-61.

D

Dahlström A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of the brain stem neurons. *Acta Physiol Scand* 1964;62 Suppl 232:1-55.

Dana CL. The function of the corpora striata, with a suggestion as to a clinical method for studying them. *J Nerv Ment Disord* 1908;35:65-76.

Deacon T, Dinsmore J, Costantini LC, Ratliff J, Isacson O. Blastula-stage stem cells can differentiate into dopaminergic and serotonergic neurons after transplantation. *Exp Neurol* 1998; 149:28-41.

Dearry A, Gingrich JA, Falardeau P, Fremeau RT Jr, Bates MD, Caron MG. Molecular cloning and expression of the gene for a human D1 dopamine receptor. *Nature* 1990;347:72-6.

De Champlain J, Nadeau R. 6-Hydroxydopamine, 6-hydroxydopa and degeneration of adrenergic nerves. *Fed Proc* 1971;30:877-85.

DelGuerra A, Di Domenico G, Scandola M, Zavattini G. High spatial resolution small animal YAP-PET. *Nucl Instrum Meth Phys Res Sect A* 1998; 409:508-10.

DelGuerra A, Damiani C, Di Domenico G et al. An integrated PET-SPECT small animal overview: preliminary results. *IEEE Trans Nucl Sci* 2000; 47:1537-40.

DeLong MR, Georgopoulos AP. Motorfunctions of the basal ganglia. In: Brookhart JM, Mountcastle VB, Brooks VB, Geiger SR. (Eds.), *Handbook of physiology. The nervous system. Motor Control. Sect. I., Vol. II, Pt. 2.* Bethesda, American Physiological Society, 1981;1017-61.

DeLong MR, Alexander GE, Crutcher MD. Parallel basal ganglia-thalamocortical circuits. *NINS* 1991;3:197-209.

De Montis MG, Devoto P, Gessa GL, Porcella A, Serra G, Tagliamonte A. Possible role of DA receptors in the mechanisms of action of antidepressants. In: Gessa GL, Serra G (Eds.), *Dopamine and mental depression.* Oxford Pergamon Press 1990;147-57.

Deniau JM, Hammond C, Risz A, Feger J. Electrophysiological properties of identified output neurons of the rat substantia nigra (pars compacta and pars reticulata): evidences for the existence

of branched neurons. *Exp Brain Res* 1978;32:409-22.

de Paulis T, Kumar Y, Johansson L et al. Potential neuroleptic agents. 3. Chemistry and antidopaminergic properties of substituted 6-methoxysalicylamides. *J Med Chem* 1985;28:1263-9.

de Paulis T, Janowsky A, Kessler RM, Clanton JA, Smith HE. (S)-N-[(1-ethyl-2-pyrrolidinyl)methyl]-5-[125I]iodo- 2-methoxybenzamide hydrochloride, a new selective radioligand for dopamine D-2 receptors. *J Med Chem* 1988; 31:2027-33.

Derenzo S. Mathematical removal of positron range blurring in high resolution tomography. *IEEE Trans Nucl Sci* 1986; 33:565-9.

Derenzo SE, Huesmann RH, Cahoon JL et al. Initial results from the Donner 600 crystal positron tomograph. *IEEE Trans Nucl Sci* 1987; NS-34:321-5.

Devine DP, Leone P, Pocock D, Wise RA. Differential involvement of ventral tegmental mu, delta and kappa opioid receptors in modulation of basal mesolimbic dopamine release: in vivo microdialysis studies. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;266:1236-46.

Dewey SL, Smith GS, Logan J et al. GABAergic inhibition of endogenous dopamine release measured in vivo with 11C-raclopride and positron emission tomography. *J Neurosci* 1992;12:3773-80.

Dewey SL, Smith GS, Logan J, Brodie JD, Fowler JS, Wolf AP. Striatal binding of the PET ligand 11C-raclopride is altered by drugs that modify synaptic dopamine levels. *Synapse* 1993;13:350-6.

Dewey SL, Smith GS, Logan J et al. Serotonergic modulation of striatal dopamine measured with positron emission tomography (PET) and in vivo microdialysis. *J Neurosci* 1995;15:821-9.

D'haenen HA, Bossuyt A. Dopamine D2 receptors in depression measured with single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry* 1994; 35:128-32.

Dhanasekaran N, Prasad MV, Wadsworth SJ, Dermott JM, van Rossum G. Protein kinase C-dependent and -independent activation of Na⁺/H⁺ exchanger by G alpha 12 class of G proteins. *J Biol Chem* 1994;269:11802-6.

Diaz J, Levesque D, Griffon N et al. Opposing roles for dopamine D2 and D3 receptors on neurotensin mRNA expression in nucleus accumbens. *Eur J Neurosci*. 1994;6:1384-7.

Di Chiara G, Porceddu ML, Spano PF, Gessa GL. Haloperidol increases and apomorphine decreases striatal dopamine metabolism after destruction of striatal dopamine-sensitive adenylate cyclase by kainic acid. *Brain Res* 1977;130:374-82.

Di Domenico G, Giganti M, Motta A et al. Quantitative PET-SPECT small animal scanner: preliminary results. *IEEE NSS & MIC Conference Records* 2001;3:1577-9.

Digenis GA, Vincent SH, Kook CS, Reiman RE, Russ GA, Tilbury RS. Tissue distribution studies of [¹⁸F]haloperidol, [¹⁸F]-β-[4-fluorobenzoyl]propionic acid, and [⁸²Br]bromperidol by external scintigraphy. *J Pharm Sci*.1981;70:985.

Dougherty DD, Bonab AA, Spencer TJ, Rauch SL, Madras BK, Fischman AJ. Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet* 1999; 354:2132-3.

Dresel SH, Kung MP, Plossl K, Meegalla SK, Kung HF. Pharmacological effects of dopaminergic drugs on in vivo binding of [99mTc]TRODAT-1 to the central dopamine transporters in rats. *Eur J Nucl Med* 1998;25:31-9.

Dresel S, Krause J, Krause KH et al. Attention deficit hyperactivity disorder: binding of [99mTc]TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment.

Eur J Nucl Med 2000;27:1518-24.

Dubey P, Su H, Adonai N, Du S, Rosato A, Braun J, Gambhir SS, Witte ON. Quantitative imaging of the T cell antitumor response by positron-emission tomography. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100:1232-7.

E

Ebert D, Feistel H, Kaschka W, Barocka A, Pirner A. Single photon emission computerized tomography assessment of cerebral dopamine D2 receptor blockade in depression before and after sleep deprivation--preliminary results. Biol Psychiatry 1994;35:880-5.

Elfving B, Björnholm B, Knudsen GM. Interference of anaesthetics with radioligand binding in neuroreceptor studies. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2003; 30:912-5.

Emilien G, Maloteaux JM, Geurts M, Hoogenberg K, Cragg S. Dopamine receptors-physiological understanding to therapeutic intervention potential. Pharmacol Ther 1999;84:133-56.

Engelhardt A, Greeff K, Holtz P, von Lueckner R. The methylation of noradrenaline in the organism. Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol 1954;221:506-16.

Enna SJ, Bennett JP, Bylund DB et al. Neurotransmitter receptor binding: Regional distribution in human brain. J Neurochem 1977;28:233-6.

Ernst M, Zametkin AJ, Matochik JA, Jons PH, Cohen RM. DOPA decarboxylase activity in attention deficit hyperactivity disorder adults. A [fluorine-18]fluorodopa positron emission tomographic study. J Neurosci 1998;18:5901-7.

Ernst M, Zametkin AJ, Matochik JA, Pascualvaca D, Jons PH, Cohen RM. High midbrain

[18F]DOPA accumulation in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 1999;156:1209-15.

F

Falkenburger BH, Barstow KL, Mintz IM. Dendrodendritic inhibition through reversal of dopamine transport. *Science* 2001;293:2465-70.

Fang J, Baker GB, Silverstone PH, Coutts RT. Involvement of CYP3A4 and CYP2D6 in the metabolism of haloperidol. *Cell Mol Neurobiol* 1997;17:227-33.

Farde L, Wiesel FA, Stone-Elander S et al. D2 dopamine receptors in neuroleptic-naïve schizophrenic patients. A positron emission tomography study with [11C]raclopride. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:213-9.

Farde L, Nordstrom AL. PET analysis indicates atypical central dopamine receptor occupancy in clozapine-treated patients. *Br J Psychiatry Suppl* 1992;17:30-3.

Faull RML, Mehler WR. The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neuroscience* 1978;3:989-1002.

Felder CC, Campbell T, Albrecht F, Jose PA. Dopamine inhibits Na⁽⁺⁾-H⁺ exchanger activity in renal BBMV by stimulation of adenylate cyclase. *Am J Physiol* 1990;259:F297-303.

Felder CC, Albrecht FE, Campbell T, Eisner GM, Jose PA. cAMP-independent, G protein-linked inhibition of Na⁺/H⁺ exchange in renal brush border by D1 dopamine agonists. *Am J Physiol* 1993;264:F1032-7.

Ferner H. Makroskopische Anatomie des End- und Zwischenhirns. In: Benninghoff/Goerttler Lehrbuch der Anatomie des Menschen. Makroskopische und mikroskopische Anatomie unter

funktionellen Gesichtspunkten. Band III, Nervensystem, Haut und Sinnesorgane. München, Wien, Baltimore, Urban & Schwarzenberg, 1979;17 – 45.

Ferré S, Fuxe K. Dopamine denervation leads to an increase in the intramembrane interactions between adenosine A₂ and dopamine D₂ receptors in the neostriatum. *Brain Res* 1992; 595:124-30.

Feuerstein C, Demenge P, Caron P, Barrette G, Guerin B, Mouchet P. Supersensitivity time course of dopamine antagonist binding after nigrostriatal denervation: evidence for early and drastic changes in the rat corpus striatum. *Brain Res* 1981a;226:221-34.

Feuerstein C, Demenge P, Barrette G, Silice C, Guerin B, Mouchet P. Long-term effects of nigrostriatal denervation of striatal [3H]haloperidol binding. *Eur J Pharmacol* 1981b;76(4):457-60

Filloux FM, Wamsley JK, Dawson TM. Dopamine D-2 auto- and postsynaptic receptors in the nigrostriatal system of the rat brain: localization by quantitative autoradiography with [3H]sulpiride. *Eur J Pharmacol* 1987a;138:61-8.

Filloux FM, Wamsley JK, Dawson TM. Presynaptic and postsynaptic D1 dopamine receptors in the nigrostriatal system of the rat brain: a quantitative autoradiographic study using the selective D1 antagonist [3H]SCH 23390. *Brain Res* 1987b;408:205-9.

Fleckenstein AE, Lookingland KJ, Moore KE. Activation of mesolimbic dopaminergic neurons following central administration of histamine is mediated by H1 receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1993;347:50-4.

Fleckenstein AE, Lookingland KJ, Moore KE. Differential effects of histamine on the activity of hypothalamic dopaminergic neurons in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:270-6.

Fornaguera J, Schwarting RK, Boix F, Huston JP. Behavioral indices of moderate nigro-striatal 6-hydroxydopamine lesion: a preclinical Parkinson's model. *Synapse*. 1993;13:179-85.

Fornaguera J, Huston JP, Carey RJ, Schwarting RK. Stimulation of D1- or D2-receptors in drug-naive rats with different degrees of unilateral nigro-striatal dopamine lesions. *Psychopharmacology* 1995;119:145-54.

Forsman A, Martensson E, Nyberg G, Ohman R. A gas chromatographic method for determining haloperidol. A sensitive procedure for studying serum concentration and pharmacokinetics of haloperidol in patients. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1974;286:113-24.

Forsman A, Ohman R. Pharmacokinetic studies on haloperidol in man. *Curr Ther Res Clin Exp* 1976;20:319-36.

Forsman AO. Individual variability in response to haloperidol. *Proc R Soc Med* 1976;69 suppl 1:9-12.

Forsman A, Fölsch G, Larsson M et al. On the metabolism of haloperidol in man. *Curr Ther Res* 1977;21:606-17.

Forsman A, Larsson M. Metabolism of haloperidol. *Curr Ther Res* 1978;24:576-8.

Fowler JS, Volkow ND, Wolf AP et al. Mapping cocaine-binding sites in human and baboon brain in vivo. *Synapse* 1989;4:371-7.

Franklin KB, Vaccarino FJ. Differential effects of amphetamine isomers on SN self-stimulation: evidence for DA neuron subtypes. *Pharmacol Biochem Behav* 1983;18:747-51.

Freed C, Revay R, Vaughan RA, Kriek E, Grant S, Uhl GR, Kuhar MJ. Dopamine transporter immunoreactivity in rat brain. *J Comp Neurol.* 1995;359:340-9.

Frese T, Rouze NC, Bouman CA, Sauer K, Hutchins GD. Quantitative comparison of FBP, EM, and Bayesian reconstruction algorithms for the IndyPET scanner. *IEEE Trans Med Imaging.* 2003;22:258-76.

Fricker RA, Torres EM, Dunnett SB. The effects of donor stage on the survival and function of embryonic striatal grafts in the adult rat brain. I. Morphological characteristics. *Neuroscience* 1997; 79:695-710.

Fricker RA, Torres EM, Hume SP et al. The effects of donor stage on the survival and function of embryonic striatal grafts in the adult rat brain. II. Correlation between positron emission tomography and reaching behaviour. *Neuroscience* 1997; 79:711-21.

Fricker-Gates RA, Lundberg C, Dunnett SB. Neural transplantation: restoring complex circuitry in the striatum. *Restor Neurol Neurosci* 2001; 19:110-38.

Froemming JS, Lam YW, Jann MW, Davis CM. Pharmacokinetics of haloperidol. *Clin Pharmacokinet* 1989;17:396-423.

Fukuyama H, Hayashi T, Katsumi Y, Tsukada H, Shibasaki H. Issues in measuring glucose metabolism of rat brain using PET: the effect of the Harderian glands on the frontal lobe. *Neurosci Lett* 1998;255:99-102.

Furenlid LR, Wilson DW, Chen Y et al. FastSPECT II: A second generation high-resolution dynamic SPECT imager. *IEEE Trans Nucl Sci* 2004;51:631-635.

G

Gainetdinov RR, Jones SR, Fumagalli F, Wightman RM, Caron MG. Re-evaluation of the role of the dopamine transporter in dopamine system homeostasis. *Brain Res Brain Res Rev* 1998;26:148-53.

Gainetdinov RR, Wetsel WC, Jones SR, Levin ED, Jaber M, Caron MG. Role of serotonin in the paradoxical calming effect of psychostimulants on hyperactivity. *Science* 1999;283:397-401.

Gambhir SS, Barrio J, Wu L, et al. Imaging of adenoviral-directed herpes simplex virus type 1 thymidine kinase reporter gene expression in mice with radiolabeled ganciclovir. *J Nucl Med* 1998; 39:2003-11.

Ganz MB, Pachter JA, Barber DL. Multiple receptors coupled to adenylate cyclase regulate Na-H exchange independent of cAMP. *J Biol Chem* 1990;265:8989-92.

Garris PA, Walker QD, Wightman RM. Dopamine release and uptake rates both decrease in the partially denervated striatum in proportion to the loss of dopamine terminals. *Brain Res* 1997;753:225-34.

Garris PA, Budygin EA, Phillips PE et al. A role for presynaptic mechanisms in the actions of nomifensine and haloperidol. *Neuroscience* 2003;118:819-29.

Gatley SJ, Volkow ND, Fowler JS, Dewey SL, Logan J. Sensitivity of striatal [¹¹C]cocaine binding to decreases in synaptic dopamine. *Synapse* 1995;20:137-44.

Gatley SJ, Pan D, Chen R, Chaturvedi G, Ding YS. Affinities of methylphenidate derivatives for dopamine, norepinephrine and serotonin transporters. *Life Sci* 1996;58:231-9.

Gerfen CR. The neostriatal mosaic: compartmentalization of corticostriatal input and striatonigral output systems. *Nature* 1984;311:461-4.

Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC et al. D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 1990;250:1429-32.

Gingrich JA, Caron MG. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu Rev Neurosci* 1993;16:299-321.

Ginovart N, Farde L, Halldin C, Swahn CG. Effect of reserpine-induced depletion of synaptic dopamine on [¹¹C]raclopride binding to D2-dopamine receptors in the monkey brain. *Synapse* 1997;25:321-5.

Ginovart N, Farde L, Halldin C, Swahn CG. Effect of anesthetics and evoked dopamine release on [¹¹C]raclopride binding in the cat striatum. *Neuroimage* 1998; 7:A7.

Ginovart N, Farde L, Halldin C, Swahn CG. Changes in striatal D2-receptor density following chronic treatment with amphetamine as assessed with PET in nonhuman primates. *Synapse* 1999;31:154-62.

Giorguieff MF, Kemel ML, Glowinski J, Besson MJ. Stimulation of dopamine release by GABA in rat striatal slices. *Brain Res* 1978;139:115-30.

Giorguieff MF, Le Floch ML. Presynaptic receptors of nicotinic and muscarinic types in the control of the spontaneous release of DA from striatal dopaminergic terminals in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;200:535-44.

Girault JA, Spampinato U, Glowinski J, Besson MJ. In vivo release of (³H)(-aminobutyric acid in the rat neostriatum. II. Opposing effects of D1 and D2 dopamine receptor stimulation in the dorsal caudate putamen. *Neuroscience* 1986;19:1109-17.

Girault JA, Halpain S, Greengard P. Excitatory aminoacid antagonists and Parkinson's disease. *TINS* 1990;13:325-6.

Giros B, el Mestikawy S, Bertrand L, Caron MG. Cloning and functional characterization of a cocaine-sensitive dopamine transporter. *FEBS Lett* 1991;295:149-54.

Giros B, Wang YM, Suter S, McLeskey SB, Pifl C, Caron MG. Delineation of discrete domains for substrate, cocaine, and tricyclic antidepressant interactions using chimeric dopamine-norepinephrine transporters. *J Biol Chem* 1994;269:15985-8.

Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 1996;379:606-12.

Glass M, Dragunow M, Faull RL. The pattern of neurodegeneration in Huntington's disease: a comparative study of cannabinoid, dopamine, adenosine and GABA(A) receptor alterations in the human basal ganglia in Huntington's disease. *Neuroscience* 2000; 97:505-19.

Goldman-Rakic PS. Cytoarchitectonic heterogeneity of the primate neostriatum: Subdivisions into island and matrix cellular compartments. *J Comp Neurol* 1982;205:398-413.

Grace AA, Bunney BS. Paradoxical GABA excitation of nigral dopaminergic cells: Indirect mediation through reticulata inhibitory neurons. *Eur J Pharmacol* 1979;59:211-8.

Grace AA, Bunney BS. The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. *J Neurosci* 1984a;4:2877-90.

Grace AA, Bunney BS. The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: single spike firing. *J Neurosci* 1984b;4:2866-76.

Graybiel AM, Ragsdale CW, Yoneoka ES, Elde RP. An immunohistochemical study of enkephalins and other neuropeptides in the striatum of the cat with evidence that the opiate peptides are arranged to form mosaic patterns in register with the striosomal compartments visible by acetylcholinesterase staining. *Neuroscience* 1981;6:377-97.

Graybiel, A. M. Neurochemically specified subsystems in the basal ganglia. Ciba Foundation Symposium 1984, Pitman, London, 1984;114-49, 1984.

Graybiel AM, Ragsdale CW. Biochemical anatomy of the striatum. In: Emson PC (Ed.), *Chemical Neuroanatomy*. Raven Press, New York, 1986; 427-504.

Greif GJ, Lin YJ, Liu JC, Freedman JE. Dopamine-modulated potassium channels on rat striatal neurons: specific activation and cellular expression. *J Neurosci* 1995;15:4533-44.

Groves PM, Wilson CJ, Young SJ, Rebec GV. Self-inhibition by dopaminergic neurons. *Science* 1975;190:522-8.

Gu H, Wall SC, Rudnick G. Stable expression of biogenic amine transporters reveals differences in inhibitor sensitivity, kinetics, and ion dependence. *J Biol Chem*. 1994;269:7124-30.

Guerin B, Silice C, Mouchet P, Feuerstein C, Demenge P. Changes of the striatal ³H-spiperone binding 3-6 weeks after nigrostriatal denervation and after two years. *Life Sci* 1985; 37:953-961.

Guo NN, Waterhouse R, Huang YY, Zea-Ponce Y, Mann JJ, Laruelle M. Effect of acute endogenous dopamine depletion on in vivo [123I]IBZM binding in rodents. *Soc Neurosci Abstr* 1999;25:953.

Günther I, Hall H, Halldin C, Swahn CG, Farde L, Sedvall G. [125I] beta-CIT-FE and [125I] beta-CIT-FP are superior to [125I] beta-CIT for dopamine transporter visualization: autoradiographic evaluation in the human brain. *Nucl Med Biol* 1997;24:629-34.

Gruber H. Die Architektonik des Zwischenhirns. In: Benninghoff/Goerttler Lehrbuch der Anatomie des Menschen. Makroskopische und mikroskopische Anatomie unter funktionellen Gesichtspunkte. Band III, Nervensystem, Haut und Sinnesorgane. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1979;218-53.

Guiramand J, Montmayeur JP, Ceraline J, Bhatia M, Borrelli E. Alternative splicing of the dopamine D2 receptor directs specificity of coupling to G-proteins. *J Biol Chem* 1995;270:7354-8.

H

Haber SN, Lynd E, Klein C, Groenewegen HJ. Topographic organization of the ventral striatal efferent projections in the rhesus monkey: an anterograde tracing study. *J Comp Neurol* 1990;293:282-98.

Habraken JBA, de Bruin K, Shehata M et al. Evaluation of a high-resolution pinhole SPECT using a small rotating animal. *J Nucl Med* 2001; 42:1863-69.

Haeusler G. Early pre-postjunctional effects of 6-hydroxydopamine. *J Pharmacol Exp Ther* 1971;178:49-62.

Hall H, Sedvall G, Magnusson O, Kopp J, Halldin C, Farde L. Distribution of D1- and D2-dopamine receptors, and dopamine and its metabolites in the human brain. *Neuropsychopharmacology* 1994;11:245-56.

Hartvig P, Torstenson R, Tedroff J et al. Amphetamine effects on dopamine release and synthesis rate studied in the Rhesus monkey brain by positron emission tomography. *J Neural Transm* 1997;104:329-39.

Hashitani T, Mizukawa K, Kumazaki M, Nishino H. Dopamine metabolism in the striatum of hemiparkinsonian model rats with dopaminergic grafts. *Neurosci Res* 1998; 30:43-52.

Hayakawa N, Uemura K, Ishiwata K et al. A PET-MRI registration technique for PET studies in the rat brain. *Nucl Med Biol* 2000; 27:121-5.

Hayashi T, Fukuyama H, Katsumi Y et al. Cerebral glucose metabolism in unilateral entorhinal cortex-lesioned rats: an animal PET study. *Neuroreport* 1999; 2113-8.

Hedreen JC, DeLong MR. Organization of striatopallidal, striatonigral and nigrostriatal projections in the macaque. *J Comp Neurol* 1991;304:569-95.

Heikkila R, Cohen G. Inhibition of biogenic amine uptake by hydrogen peroxide: A mechanism for toxic effects of 6-hydroxydopamine. *Science* 1971;172:1257-8.

Heikkila R, Cohen G. Further studies on the generation of hydrogen peroxide by 6-hydroxydopamine. *Mol Pharmacol* 1972;8:241-8.

Heimer L, Wilson RD. The subcortical projections of the allocortex: Similarities in the neural associations of the hippocampus, the piriform cortex, and the neocortex. In: Santini M (Ed.), *Golgi Centennial Symposium*. Raven Press, New York, 1975;177-93.

Heimer L. The olfactory cortex and the ventral striatum. In: Livingston KE, Hornykiewicz O (Eds.), *Limbic mechanisms: the continuing evolution of the limbic system concept*. Plenum Press, New York, 1976;95-187.

Herve D, Levi-Strauss M, Marey-Semper I et al. G(olf) and Gs in rat basal ganglia: possible involvement of G(olf) in the coupling of dopamine D1 receptor with adenylyl cyclase. *J Neurosci* 1993;13:2237-48.

Hierholzer J, Cordes M, Schelosky L et al. The determination of cerebral dopamine (D2) receptor density by using 123I-IBZM-SPECT in Parkinson disease patients. *Rofo* 1992;157:390-8.

Hirai T, Nohara R, Hosokawa R et al. Evaluation of myocardial infarct size in rat heart by pinhole SPECT. *J Nucl Cardiol* 2000;7:107-11.

Hirai T, Nohara R, Ogoh S et al. Serial evaluation of fatty acid metabolism in rats with myocardial infarction by pinhole SPECT. *J Nucl Cardiol* 2001;8:472-81.

Hirani E, Opacka-Juffry J, Gunn R, Khan I, Sharp T, Hume S. Pindolol occupancy of 5-HT(1A) receptors measured *in vivo* using small animal emission tomography with carbon-11 labeled WAY10065. *Synapse* 2000; 36:330-41.

Hirani E, Sharp T, Sprakes M, Grasby P, Hume S. Fenfluramine evokes 5-HT_{2A} receptor-mediated responses but does not displace [¹¹C]MDL 100907: small animal PET and gene expression studies. *Synapse* 2003;50:251-60.

Hirano H, Day J, Fibiger HC. Serotonergic regulation of acetylcholine release in rat frontal cortex. *J Neurochem* 1995;65:1139-45.

Hirata K, Mogenson GJ. Inhibitory response of pallidal neurons to cortical stimulation and the influence of conditioning stimulation of the substantia nigra. *Brain Res* 1984; 321:9-19.

Hirata K, Yim CY, Mogenson GJ. Excitatory input from sensory motor cortex to neostriatum and its modification by conditioning stimulation of the substantia nigra. *Brain Res* 1984; 321:1-8.

Hoffman E, Phelps M. Positron emission tomography: Principles and quantitation. In: Phelps M, Mazziotta J, Schelbert H (eds). *Positron Emission Tomography and Autoradiography: Principles and application for the brain and heart*. New York, NY, Raven Press, 1986, 237-86.

Holley FO, Magliozzi JR, Stanski DR, Lombrozo L, Hollister LE. Haloperidol kinetics after oral and intravenous doses. *Clin Pharmacol Ther* 1983;33:477-84.

Hong JS, Yoshikawa K, Kanamatsu T, Sabol SL. Modulation of striatal enkephalinergic neurons by antipsychotic drugs. *Fed Proc* 1985; 44:2535-9.

Hoppin JW, Lackas C, Schramm NU et al. High-resolution multipinhole SPECT: initial human studies. *Mol Imaging Biol* 2005;7:123.

Hornykiewicz O. The life history of brain dopamine. *Wien Klin Wochenschr* 1985;97:350-4.

Horiuchi A, Takeyasu K, Mouradian MM, Jose PA, Felder RA. D_{1A} dopamine receptor stimulation inhibits Na⁺/K⁺-ATPase activity through protein kinase A. *Mol Pharmacol* 1993;43:281-5.

Horn AS, Coyle JT, Snyder SH. Catecholamine uptake by synaptosomes from rat brain. Structure-activity relationship of drugs with differential effects on dopamine and norepinephrine neurons. *Mol Pharmacol* 1970; 7:66-90.

Houston G, Hume S, Grasby P. Temporal characterisation of amphetamine-induced release assessed with [^{11}C]raclopride in anaesthetized rodents. *Neuroimage* 2002; 16:11.

Hsiao MC, Lin KJ, Liu CY, Tzen KY, Yen TC. Dopamine transporter change in drug-naïve schizophrenia: an imaging study with 99mTc-TRODAT-1. *Schizophr Res.* 2003;65:39-46.

Hume SP, Myers R, Bloomfield PM et al. Quantitation of carbon-11-labeled raclopride in rat striatum using positron emission tomography. *Synapse*. 1992;12:47-54.

Hume SP, Opacka-Juffry J, Myers R et al. Effect of L-dopa and 6-hydroxydopamine lesioning on [^{11}C]raclopride binding in rat striatum quantified using PET. *Synapse* 1995; 21:45-53.

Hume SP, Lammertsma AA, Myers R et al. The potential of high-resolution positron emission tomography to monitor striatal dopaminergic function in rat models of disease. *J Neurosci Meth* 1996; 67:103-12.

Hume SP, Gunn RN, Jones T. Pharmacological constraints associated with positron emission tomographic scanning of small laboratory animals. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 1998; 25:173-6.

Hume S, Hirani E, Opacka-Juffry J et al. Effect of 5-HT on binding of [^{11}C]WAY100635 to 5-HT_{1A} receptors in rat brain, assessed using in vivo microdialysis and PET after fenfluramine. *Synapse* 2001; 41:150-9.

Hurd YL, Ungerstedt U. In vivo neurochemical profile of dopamine uptake inhibitors and releasers in rat caudate-putamen. *Eur J Pharmacol* 1989;166:251-60.

Hyttel J. SCH 23390 - the first selective dopamine D-1 antagonist. *Eur J Pharmacol* 1983;9:153-4.

I

Ichise M, Kim YJ, Ballinger JR et al. SPECT imaging of pre- and postsynaptic dopaminergic alterations in L-dopa-untreated PD. *Neurology* 1999;52:1206-14.

Ichise M, Meyer JH, Yonekura Y. An introduction to PET and SPECT neuroreceptor quantification models. *J Nucl Med* 2001;42:755-63.

Ikari H, Zhang L, Chernak JM et al. Adenovirus-mediated gene transfer of dopamine D2 receptor cDNA into rat striatum. *Brain Res Mol Brain Res* 1995; 34:315-20.

Imperato A, Di Chiara G. Dopamine release and metabolism in awake rats after systemic neuroleptics as studied by trans-striatal dialysis. *J Neurosci* 1985;5:297-306.

Inaji M, Okauchi T, Ando K et al. Correlation between quantitative imaging and behavior in unilaterally 6-OHDA-lesioned rats. *Brain Res* 2005;Nov 16; [Epub ahead of print].

Ingram SL, Prasad BM, Amara SG. Dopamine transporter-mediated conductances increase excitability of midbrain dopamine neurons. *Nat Neurosci* 2002;5:971-8.

Innis RB, Malison RT, al-Tikriti M et al. Amphetamine-stimulated dopamine release competes in vivo for [¹²³I]IBZM binding to the D2 receptor in nonhuman primates. *Synapse* 1992;10:177-84.

Inoue O, Tsukada H, Yonezawa H, Suhara T, Langstrom B. Reserpine-induced reduction of in vivo binding of SCH 23390 and N-methylspiperone and its reversal by d-amphetamine. *Eur J Pharmacol* 1991;197:143-9.

Inubushi M, Wu JC, Gambhir SS et al. Positron-emission tomography reporter gene expression imaging in rat myocardium. *Circulation*. 2003;107:326-32.

Inubushi M, Jordan MC, Roos KP et al. Nitrogen-13 ammonia cardiac positron emission tomography in mice: effects of clonidine-induced changes in cardiac work on myocardial perfusion. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004 ;31:110-6.

Ishiwata K, Hayakawa N, Ogi N et al. Comparison of three PET dopamine D₂-like receptor ligands, [¹¹C]raclopride, [¹¹C]nemonapride and [¹¹C]N-methylspiperone, in rats. *Ann Nucl Med* 1999; 13:161-7.

Ishiwata K, Ogi N, Hayakawa N et al. Adenosine A_{2A} receptor imaging with [11C]KF18446 PET in the rat brain after quinolinic acid lesion: comparison with the dopamine receptor imaging. *Ann Nucl Med* 2002; 16:467-75.

Ishiwata K, Ogi N, Hayakawa N et al. Positron emission tomography and ex vivo and in vitro autoradiography studies on dopamine D₂-like receptor degeneration in the quinolinic acid-lesioned rat striatum: comparison of [11C]raclopride, [11C]nemonapride and [11C]N-methylspiperone. *Nucl Med Biol* 2002; 29:307-16.

Ishizu K, Mukai T, Yonekura Y et al. Ultra-high resolution SPECT system using four pinhole collimators for small animal studies. *J Nucl Med* 1995; 36:2282-7.

Ishizu K, Smith DF, Bender D et al. Positron emission tomography of radioligand binding in porcine striatum in vivo: haloperidol inhibition linked to endogenous ligand release. *Synapse* 2000;38:87-101.

Ito Y, Fujita M, Shimada S et al. Comparison between the decrease of dopamine transporter and that of L-DOPA uptake for detection of early of advanced early to advanced stage of Parkinson's disease in animal models. *Synapse* 1999;31:178-85.

Iversen LL, Uretsky NJ. Regional effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine containing neurons in rat brain and spinal cord. *Brain Res* 1970;24:364-7.

Iwakura A, Fujita M, Kataoka K et al. Intramyocardial sustained delivery of basic fibroblast growth factor improves angiogenesis and ventricular function in a rat infarct model. *Heart Vessels* 2003;18:93-9.

Iwata K, Hwang AB, Wu MC et al. Design and utility of a small animal CT/SPECT system. *IEEE NSS & MIC Conferene Records* 2001;3:1849-52.

Iyer M, Barrio JR, Namavari M, et al. 8-[¹⁸F]Fluoropenciclovir: an improved reporter probe for imaging HSV1-tk reporter gene expression *in vivo* using PET. *J Nucl Med* 2001; 42:96-105.

Iyer M, Berenji M, Templeton NS, Gambhir SS. Noninvasive imaging of cationic lipid-mediated delivery of optical and PET reporter genes in living mice. *Mol Ther.* 2002;6:555-62.

Izenwasser S, Cox BM. Daily cocaine treatment produces a persistent reduction of [3H]dopamine uptake *in vitro* in rat nucleus accumbens but not in striatum. *Brain Res* 1990;531:338-41.

J

Jackson DM, Westlind-Danielsson A. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. *Pharmacol Ther* 1994;64:291-370.

Jaszczak RJ, Li J, Wang H, Zalutsky MR, Coleman RE. Pinhole collimation for ultra-high resolution, small-field-of-view SPECT. *Phys Med Biol* 1994; 39:425-37.

Jeavons AP, Chandler RA, Dettmar CAR. A 3D HIDAC-PET camera with sub-millimetre resolution for imaging small animals. *IEEE Trans Nucl Sci* 1999; 46:468-73.

Jimenez-Castellanos J, Graybiel AM. Subdivisions of the dopamine-containing A8-A9-A10 complex identified by their differential mesostriatal innervation of striosomes and extrastriosomal matrix. *Neuroscience* 1987;23:223-42.

Johnson SW, North RA. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. *J Neurosci* 1992; 12:483-8.

Johnstrom P, Harris NG, Fryer TD, Barret O, Clark JC, Pickard JD, Davenport AP. (18)F-Endothelin-1, a positron emission tomography (PET) radioligand for the endothelin receptor system: radiosynthesis and in vivo imaging using microPET. *Clin Sci.* 2002;103 Suppl 48:4S-8S.

Jones GH, Robbins TW. Differential effects of mesocortical, mesolimbic, and mesostriatal dopamine depletion on spontaneous, conditioned, and drug-induced locomotor activity. *Pharmacol Biochem Behav* 1992;43:887-95.

Jones SR, Gainetdinov RR, Jaber M, Giros B, Wightman RM, Caron MG. Profound neuronal plasticity in response to inactivation of the dopamine transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:4029-34.

Jovkar S, Wienhard K, Pawlik G, Coenen HH. The quantitative analysis of D₂-dopamine receptors in baboon striatum in vivo with 3-N-[2'-¹⁸F]fluoroethylspiperone using positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990;10:720-726.

Joyce JN, Marshall JF. Quantitative autoradiography of dopamine D₂ sites in rat caudate-putamen: localization to intrinsic neurons and not to neocortical afferents. *Neuroscience* 1987;20:773-95.

K

Kaasinen V, Ruottinen HM, Nagren K et al. Upregulation of putaminal dopamine D₂ receptors in early Parkinson's disease: a comparative PET study with [¹¹C]raclopride and [¹¹C]methylspiperone. *J Nucl Med* 2000;41:65-70.

Kadowasi K, Hirota K, Koike K et al. Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate enhances dopamine accumulation in rat hypothalamic cell culture containing dopaminergic neurons. *Neuroendocrinology* 1990;52:256-61.

Kanterman RY, Mahan LC, Briley EM et al. Transfected D2 dopamine receptors mediate the potentiation of arachidonic acid release in Chinese hamster ovary cells. *Mol Pharmacol* 1991; 39:364-9.

Karobath M, Leitich H. Antipsychotic drugs and dopamine-stimulated adenylate cyclase prepared from corpus striatum of rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974;71:2915-8.

Kasper S, Tauscher J, Willeit M et al. Receptor and transporter imaging studies in schizophrenia, depression, bulimia and Tourette's disorder--implications for psychopharmacology. *World J Biol Psychiatry* 2002;3:133-46.

Kastis GA, WU MC, Balzer SJ et al. Tomographic small-animal imaging using a high-resolution semiconductor camera. *IEEE NSS & MIC Conference Records* 2000;3:31-5.

Kastis GA, Furenlid LR, Wilson DW, Peterson TE, Barber HB, Barrett HH. Compact CT/SPECT small animal imaging system. *IEEE Trans Nucl Sci* 2004;51:63-67.

Katsumi Y, Hanakawa T, Fukuyama H et al. The effect of sequential lesioning in the basal forebrain on cerebral cortical glucose metabolism in rats. An animal positron emission tomography study. *Brain Res.* 1999; 837:75-82.

Kaufman MJ, Madras BK. Severe depletion of cocaine recognition sites associated with the dopamine transporter in Parkinson's-diseased striatum. *Synapse* 1991;9:43-9.

Kawagoe KT, Garris PA, Wiedemann DJ, Wightman RM. Regulation of transient dopamine concentration gradients in the microenvironment surrounding nerve terminals in the rat striatum. *Neuroscience* 1992;51:55-64.

Kawamura K, Oda K, Ishiwata K. Age-related changes of the [¹¹C]CFT binding in the striatal dopamine transporters in the Fischer 344 rats: a PET study. *Ann Nucl Med*. 2003; 17:249-53.

Kebabian JW, Calne DB. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 1979;277:93-6.

Kehr W, Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T, Atack C. Evidence for a receptor-mediated feedback control of striatal tyrosine hydroxylase activity. *J Pharm Pharmacol* 1972;24:744-7.

Kerkerian L, Nieoullon A. Effects of acetylcholine on sodiumdependent high affinity glutamate transport in rat striatal homogenates. *J Neurochem* 1983; 40:1287-92.

Kerkerian L, Nieoullon A. Supersensitivity of presynaptic receptors involved in the dopaminergic control of striatal high affinity glutamate uptake after 6-hydroxydopamine lesion of nigrostriatal dopaminergic neurons. *Exp Brain Res* 1988; 69:424-30.

Kerkerian-LeGoff L, Nieoullon A. Cellular interactions in the striatum. Classical neurotransmitters in the neuronal systems. *NINS* 1991;3:251-70.

Kessler RM, Ansari MS, Schmidt DE et al. High affinity dopamine D₂ receptor radioligands. 2. [¹²⁵I]epidepride, a potent and specific radioligand for the characterization of striatal and extrastriatal dopamine D₂ receptors. *Life Sci* 1991;49:617-628.

Khan ZU, Mrzljak L, Gutierrez A, de la Calle A, Goldman-Rakic PS. Prominence of the dopamine D2 short isoform in dopaminergic pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:7731-6.

Kilty JE, Lorang D, Amara SG. Cloning and expression of a cocaine-sensitive rat dopamine transporter. *Science* 1991;254:578-9.

Kim SE, Shin I, Oh SJ et al. Nicotine-induced dopamine release evaluated with in vivo [3H]raclopride binding studies: comparison with in vivo dialysis data. *J Nucl Med* 1998;39:54P

Kimura K, Sela S, Bouvier C, Grandy DK, Sidhu A. Differential coupling of D1 and D5 dopamine receptors to guanine nucleotide binding proteins in transfected GH4C1 rat somatomammotrophic cells. *J Neurochem* 1995;64:2118-24.

Kita H, Kitai ST. Subthalamic afferents to the globus pallidus and substantia nigra in the rat: Light and electron microscopic studies using PHA-L method. *Soc Neurosci Abstr* 1985;110: 5.

Kita H, Kitai ST. Efferent projections of the subthalamic nucleus in the rat: Light and electron microscopic analysis with the PHA-L method. *J Comp Neurol* 1987;260:435-52.

Kitai ST, Surmeier DJ. Cholinergic and dopaminergic modulation of potassium conductances in neostriatal neurons. *Adv Neurol* 1993;60:40-52.

Kitayama S, Shimada S, Xu H, Markham L, Donovan DM, Uhl GR. Dopamine transporter site-directed mutations differentially alter substrate transport and cocaine binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:7782-5.

Kitayama S, Dohi T, Uhl GR. Phorbol esters alter functions of the expressed dopamine transporter. *Eur J Pharmacol* 1994;268:115-9.

Klein WP, Barrett HH, Pang IW et al. FASTSPECT: Electrical and mechanical design of a high-resolution dynamic STECT imager. IEEE NSS & MIC Conference Records 1995; 931-3.

Klimke A, Larisch R, Janz A, Vosberg H, Muller-Gartner HW, Gaebel W. Dopamine D2 receptor binding before and after treatment of major depression measured by [123I]IBZM SPECT. Psychiatry Res 1999;90:91-101.

Klingler J. Ein zerlegbares Modell der Vorder- und Mittelhirnkerne des Menschen mit Einschluß der angrenzenden Rindenpartien. Z Anat Entw Gesch 1942;111:1-90.

Knable MB, Egan MF, Heinz A et al. Altered dopaminergic function and negative symptoms in drug-free patients with schizophrenia. [123I]-iodobenzamide SPECT study. Br J Psychiatry 1997;171:574-7.

Knoess C, Siegel S, Smith A et al. Performance evaluation of the microPET R4 PET scanner for rodents. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2003; 30:737-47.

Kohler C, Hall H, Ogren SO, Gawell L. Specific in vitro and in vivo binding of 3H-raclopride. A potent substituted benzamide drug with high affinity for dopamine D-2 receptors in the rat brain. Biochem Pharmacol 1985;34:2251-9.

Kornblum HI, Araujo DM, Annala AJ, Tatsukawa KJ, Phelps ME, Cherry SR. *In vivo* imaging of neuronal activation and plasticity in the rat brain with microPET, a novel high-resolution positron emission tomograph. Nature Biotechnol 2000; 18:655-60.

Kornetsky C, Esposito RU. Reward and detection thresholds for brain stimulation: dissociative effects of cocaine. Brain Res 1981;209:496-500.

Kotian P, Mascarella SW, Abraham P et al. Synthesis, ligand binding, and quantitative structure-activity relationship study of 3 beta-(4'-substituted phenyl)-2 beta-heterocyclic tropanes: evidence

for an electrostatic interaction at the 2 beta-position. *J Med Chem* 1996;39:2753-63.

Krause KH, Dresel SH, Krause J, Kung HF, Tatsch K. Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neurosci Lett*. 2000;285:107-10.

Krebs MO, Kemel ML, Gauchy C, Desban M, Glowinski J. Glycine potentiates the NMDA-induced release of dopamine through a strychnine-insensitive site in the rat striatum. *Eur J Pharmacol* 1989;166:567-70.

Krendal FP, Kudrin AN. Comparative study of the antipsychotic action of certain neuroleptics modeled on LSD psychosis. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 1973;73:747-53.

Kuczenski R, Segal DS. Differential effects of amphetamine and dopamine uptake blockers (cocaine, nomifensine) on caudate and accumbens dialysate dopamine and 3-methoxytyramine. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;262:1085-94.

Kuczenski R, Segal DS. Effects of methylphenidate on extracellular dopamine, serotonin, and norepinephrine: comparison with amphetamine. *J Neurochem* 1997;68:2032-7.

Kudo T, Fukuchi K, Annala AJ et al. Noninvasive measurement of myocardial activity concentrations and perfusion defect sizes in rats with a new small- animal positron emission tomograph. *Circulation* 2002;106:118-23.

Künzle H. Projections from the primary somatosensory cortex to basal ganglia and thalamus in the monkey. *Exp Brain Res* 1977;30:481-92.

Künzle H. An autoradiographic analysis of the efferent connections from premotor and adjacent prefrontal regions (area 6 and 9) in macaca fascicularis. *Brain Behav Evol* 1978;15: 185-234.

Kuge Y, Minematsu K, Hasegawa Y, et al. Positron emission tomography for quantitative determination of glucose metabolism in normal and ischemic brains in rats: an insoluble problem by the Harderian glands. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;17:116-20.

Kung MP, Stevenson DA, Plossl K et al. [^{99m}Tc]TRODAT-1: a novel technetium-99m complex as a dopamine transporter imaging agent. *Eur J Nucl Med* 1997;24:372-80.

Kung HF, Billings JJ, Guo YZ et al. Comparison of in vivo D₂ dopamine receptor binding of IBZM and NMSP in rat brain. *Nucl Med Biol* 1988;15:203-8.

Kyte J, Doolittle RF. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J Mol Biol* 1982;157:105-32

L

Laakso A, Vilkkumäki H, Alakare B et al. Striatal dopamine transporter binding in neuroleptic-naïve patients with schizophrenia studied with positron emission tomography. *Am J Psychiatry* 2000; 157:269-71.

Laakso A, Bergman J, Haaparanta M et al. Decreased striatal dopamine transporter binding in vivo in chronic schizophrenia. *Schizophr Res* 2001;52:115-20.

Lacey MG, Mercuri NB, North RA. Dopamine acts on D₂ receptors to increase potassium conductance in neurones of the rat substantia nigra zona compacta. *J Physiol* 1987;392:397-416.

Lackas C, Schramm NU, Hoppin JW, Engeland U, Wirtz A, Halling H. T-SPECT: A novel imaging technique for small animal research. *IEEE Trans Nucl Sci* 2005;52:181-7.

Laitinen JT. Dopamine stimulates K⁺ efflux in the chick retina via D₁ receptors independently of adenylyl cyclase activation. *J Neurochem* 1993;61:1461-9.

Larisch R, Klimke A, Vosberg H, Loffler S, Gaebel W, Muller-Gartner HW. In vivo evidence for the involvement of dopamine-D2 receptors in striatum and anterior cingulate gyrus in major depression. *Neuroimage* 1997;5:251-60.

Larisch R, Klimke A. Zur klinischen Wertigkeit der zerebralen Dopa,im-D2-Rezeptorszintigraphie. *Nuklearmedizin* 1998;37:245-50.

Larisch R, Sitte W, Antke C, Nikolaus S et al. Striatal dopamine transporter density in drug naive patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Nucl Med Commun* 2006; 27:267-70.

Laruelle M, Baldwin M, Malison RT et al. SPECT imaging of dopamine and serotonin transporters with [123I]beta-CIT: pharmacological characterization of brain uptake in nonhuman primates. *Synapse*. 1993;13:295-309.

Laruelle M, al-Tikriti MS, Zea-Ponce Y et al. In vivo quantification of dopamine D2 receptor parameters in nonhuman primates with [123I]iodobenzofuran and single photon emission computerized tomography. *Eur J Pharmacol* 1994a;263:39-51.

Laruelle M, van Dyck C, Abi-Dargham A et al. Compartmental modeling of iodine-123-iodobenzofuran binding to dopamine D2 receptors in healthy subjects. *J Nucl Med* 1994b;35:743-54.

Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH et al. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:9235-40.

Laruelle M, Iyer RN, al-Tikriti MS et al. Microdialysis and SPECT measurements of amphetamine-induced dopamine release in nonhuman primates. *Synapse* 1997;25:1-14.

Laruelle M. Imaging synaptic neurotransmission with in vivo binding competition techniques: a

critical review. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20:423-51.

Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck C et al., Dopamine and serotonin transporters in patients with schizophrenia: an imaging study with [(123)I]beta-CIT. *Biol Psychiatry*. 2000;47:371-379.

Lavalaye J, Knol RJJ, de Bruin K, Renenman L, Janssen AG, Booij J. [123I]FP-CIT in rat brain after acute and sub-chronic administration of dopaminergic medication. *Eur J Nucl Med* 2000;27:346-9.

Lavalaye J, Linszen DH, Booij J et al. Dopamine transporter density in young patients with schizophrenia assessed with [123I]FP-CIT SPECT. *Schizophr Res* 2001;47:59-67.

Lecomte R, Cadorette J, Richard P, Rodrigue S, Rouleau D. Design and engineering aspects of a high resolution positron tomograph for small animal imaging. *IEEE Trans Nucl Sci* 1994; 41:1446-52.

Lee CS, Samii A, Sossi V et al. In vivo positron emission tomographic evidence for compensatory changes in presynaptic dopaminergic nerve terminals in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2000; 47:493-503.

Lehmann J, Langer SZ. The striatal cholinergic interneuron: Synaptic target of dopaminergic terminals ? *Neuroscience* 1983;10:1105-20.

Le Masurier M, Houston G, Cowen P, Grasby P, Sharp T, Hume S. Tyrosine-free amino acid mixture attenuates amphetamine-induced displacement of [11C]raclopride in striatum in vivo: a rat PET study. *Synapse*. 2004; 51:151-7.

Le Moal M, Simon H. Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. *Physiol Rev* 1991;71:155-234.

Lenhard T, Marheineke K, Lingen B et al. Characterization of the human dopamine transporter heterologously expressed in BHK-21 cells. *Cell Mol Neurobiol.* 1998;18:347-60.

Leonard BE, McCartan D, White J, King DJ. Methylphenidate: a review of its neuropharmacological, neuropsychological and adverse clinical effects. *Hum Psychopharmacol* 2004;19:151-80.

Levin ED, Rose JE. Acute and chronic nicotinic interactions with dopamine systems and working memory performance. *Ann N Y Acad Sci* 1995;757:245-52.

Levivier M, Holemans S, Togasaki DM, Maloteaux JM, Brotchi J, Przedborski S. Quantitative assessment of quinolinic acid-induced striatal toxicity in rats using radioligand binding assays. *Neurol Res* 1994; 16:194-200.

Lewis JS, Connett JM, Garbow JR et al. Copper-64-pyruvaldehyde-bis(N(4)-methylthiosemicarbazone) for the prevention of tumor growth at wound sites following laparoscopic surgery: monitoring therapy response with microPET and magnetic resonance imaging. *Cancer Res.* 2002;62:445-9.

Leysen JE. Unitary dopaminergic receptor composed of cooperatively linked agonist and antagonist sub-unit binding sites. *Commun Psychopharmacol* 1979;3:397-410.

Li J, Jaszczak RJ, Greer KL, Coleman RE. A filtered backprojection algorithm for pinhole SPECT with a displaced center of rotation. *Phys Med Biol* 1994; 39:165-76.

Li WP, Lewis JS, Kim J et al. DOTA-D-Tyr(1)-octreotate: a somatostatin analogue for labeling with metal and halogen radionuclides for cancer imaging and therapy. *Bioconjug Chem.* 2002;13:721-8.

Liang Q, Nguyen K, Satyamurthy N et al. Monitoring adenoviral DNA delivery, using a mutant

herpes simplex virus type 1 thymidine kinase gene as a PET reporter gene. *Gene Ther.* 2002;9:1659-66.

Lidow MS, Goldman-Rakic PS, Rakic P, Innis RB. Dopamine D₂ receptors in the cerebral cortex: distribution and pharmacological characterization with [³H]raclopride. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:6412-6.

Lile JA, Wang Z, Woolverton WL et al. The reinforcing efficacy of psychostimulants in rhesus monkeys: the role of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;307:356-66.

Lindgren N, Xu ZQ, Herrera-Marschitz M, Haycock J, Hokfelt T, Fisone G. Dopamine D(2) receptors regulate tyrosine hydroxylase activity and phosphorylation at Ser40 in rat striatum. *Eur J Neurosci* 2001;13:773-80.

Liu L, Shen RY, Kapatos G, Chiodo LA. Dopamine neuron membrane physiology: characterization of the transient outward current (I_A) and demonstration of a common signal transduction pathway for I_A and I_K. *Synapse* 1994;17:230-4.

Liu Z, Kastis GA, Stevenson GD et al. Quantitative analysis of acute myocardial infarct in rat hearts with ischemia-reperfusion using a high-resolution stationary SPECT system. *J Nucl Med* 2002;43:933-9.

Liu Z, Stevenson GD, Barrett HH et al. ^{99m}Tc glucarate high-resolution imaging of drug sensitive and drug resistant human breast cancer xenografts in SCID mice. *Nucl Med Commun* 2004;25:711-20.

Liu Z, Barrett HH, Stevenson GD et al. High-resolution imaging with (99m)Tc-glucarate for assessing myocardial injury in rat heart models exposed to different durations of ischemia with reperfusion. *J Nucl Med* 2004b;45:1251-9.

Logan J, Fowler JS, Volkow ND et al. Graphical analysis of reversible radioligand binding from time-activity measurements applied to [N-11C-methyl]-(-)- cocaine PET studies in human subjects. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990;10:740-7.

Logan J, Fowler JS, Volkow ND, Wang GJ, Ding YS, Alexoff DL. Distribution volume ratios without blood sampling from graphical analysis of PET data. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16:834-40.

Loudos GK, Nikita KS, Giokaris ND et al. A 3D high-resolution gamma camera for radiopharmaceutical studies with small animals. *Appl Radiat Isotopes* 2003;58:501-8.

Luker GD, Sharma V, Pica CM, Prior JL, Li W, Piwnicka-Worms D. Molecular imaging of protein-protein interactions: controlled expression of p53 and large T-antigen fusion proteins in vivo. *Cancer Res.* 2003;63:1780-8.

Lundkvist C, Halldin C, Swahn CG et al. Synthesis of 11C- or 18F-labelled analogues of β -CIT. Labelling in different positions and PET evaluations in cynomolgus monkeys. In: Abstracts XIth International Symposium on Radiopharmaceutical Chemistry, Vancouver BC, Canada, Elsevier, New York, 1995; 52-4.

Lundkvist C, Halldin C, Ginovart N, Swahn CG, Farde L. [8F] β -CIT-FP for quantitation of the dopamine transporter. *Nucl Med Biol* 1997;24:621-7.

M

Ma B, Sherman PS, Moskwa JE, Koeppe RA, Kilbourn MR. Sensitivity of [11C]N-methylpyrrolidiny benzilate ([11C]NMPYB) to endogenous acetylcholine: PET imaging vs tissue sampling methods. *Nucl Med Biol.* 2004;31:393-7.

MacDonald LR, Patt BE, Iwanczyk JS et al. Pinhole SPECT of mice using the LumaGEM

gamma camera. IEEE Trans Nucl Sci 2001; 48:830-6.

Mach RH, Nader MA, Ehrenkaufer RL et al. Use of positron emission tomography to study the dynamics of psychostimulant-induced dopamine release. Pharmacol Biochem Behav 1997;57:477-86.

Maggos CE, Tsukada H, Kakiuchi T et al. Sustained withdrawal allows normalization of *in vivo* [¹¹C]methylspiperone dopamine D₂ receptor binding after chronic binge cocaine: a positron emission tomography study in rats. Neuropsychopharmacology 1998; 19:146-53

Maldonado R, Robledo P, Chover AJ, Caine SB, Koob GF. D1 dopamine receptors in the nucleus accumbens modulate cocaine self-administration in the rat. Pharmacol Biochem Behav 1993;45:239-42.

Mandl SJ, Mari C, Edinger M et al. Multi-modality imaging identifies key times for annexin V imaging as an early predictor of therapeutic outcome. Mol Imaging 2004; 3:1-8.

Marek KL, Seibyl JP, Zoghbi SS et al. [123I] beta-CIT/SPECT imaging demonstrates bilateral loss of dopamine transporters in hemi-Parkinson's disease. Neurology 1996;46:231-7.

Marsee DK, Shen DHY, MacDonald LR et al. Imaging of metastatic pulmonary tumors following NIS gene transfer using single photon emission computed tomography. Cancer Gene Ther 2004; 11:121-127.

Marshall JF, Richardson JS, Teitelbaum P. Nigrostriatal bundle damage and the lateral hypothalamic syndrome. J Comp Physiol Psychol 1974;87:808-30.

Marshall JF, Navarrete R, Joyce JN. Decreased striatal D1 binding density following mesotelencephalic 6-hydroxydopamine injections: an autoradiographic analysis. Brain Res 1989;493:247-57.

Masson J, Sagné C, Hamon M, El Mestikawy S. Neurotransmitter transporters in the central nervous system. *Pharmacol Rev* 1999; 51: 439-64.

Marek KL, Seibyl JP, Zoghbi SS et al. [123I]-beta-CIT/SPECT imaging demonstrates bilateral loss of dopamine transporters in hemi-Parkinson's disease. *Neurology* 1996; 46:231-7.

Matecka D, Rothman RB, Radesca L et al. Development of novel, potent, and selective dopamine reuptake inhibitors through alteration of the piperazine ring of 1-[2-(diphenylmethoxy)ethyl]-and 1-[2-[bis(4-fluorophenyl)methoxy]ethyl]-4-(3-phenylpropyl)piperazines (GBR 12935 and GBR 12909). *J Med Chem* 1996;39:4704-16.

Mathis CA, Bishop JE, Gerdes JM, Whitney JM, Brennan KM, Jagust WJ. Synthesis and evaluation of high affinity, aryl-substituted [18F]fluoropropylbenzamides for dopamine D-2 receptor studies. *Int J Rad Appl Instrum B* 1992;19:571-88.

Mattioli R, Schwarting RK, Huston JP. Recovery from unilateral 6-hydroxydopamine lesion of substantia nigra promoted by the neurotachykinin substance P 1-11. *Neuroscience*. 1992;48:595-605.

Matthysse S. Antipsychotic drug actions: a clue to the neuropathology of schizophrenia? *Fed Proc* 1973;32:200-5.

Mayer-Kuckuk P, Doubrovin M, Gusani NJ et al. Imaging of dihydrofolate reductase fusion gene expression in xenografts of human liver metastases of colorectal cancer in living rats. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30:1281-91.

Mayr R. Architektonik des unteren Hirnstamms: Verlängertes Mark, Brücke und Mittelhirn. In: Benninghoff/Goertler Lehrbuch der Anatomie des Menschen. Makroskopische und mikroskopische Anatomie unter funktionellen Gesichtspunkten. Band III, Nervensystem, Haut und Sinnesorgane. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1979;156-92.

McAllister G, Knowles MR, Ward-Booth SM et al. Functional coupling of human D2, D3, and D4 dopamine receptors in HEK293 cells. *J Recept Signal Transduct Res* 1995;15:267-81.

McKee BTA, Dickson AW, Howse DC. Performance of QPET, a high resolution 3D PET imaging system for small volumes. *IEEE Trans Nucl Sci*. 1994; 13:176-85.

McKenzie JS. Structure and function of the basal ganglia: A point of view. In: McKenzie JS, Kemm RE, Wilcock LN (Eds.), *The basal ganglia*. Plenum, New York, 1984;545-55.

McTavish SF, Cowen PJ, Sharp T. Effect of a tyrosine-free amino acid mixture on regional brain catecholamine synthesis and release. *Psychopharmacology (Berl)*. 1999;141:182-8.

McTavish SF, McPherson MH, Harmer CJ et al. Antidopaminergic effects of dietary tyrosine depletion in healthy subjects and patients with manic illness. *Br J Psychiatry*. 2001a;179:356-60.

McTavish SF, Raumann B, Cowen PJ, Sharp T. Tyrosine depletion attenuates the behavioural stimulant effects of amphetamine and cocaine in rats. *Eur J Pharmacol*. 2001b;424:115-9.

Meador-Woodruff JH, Mansour A, Grandy DK, Damask SP, Civelli O, Watson SJ Jr. Distribution of D5 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Neurosci Lett* 1992;145:209-12.

Meador-Woodruff JH, Damask SP, Wang J, Haroutunian V, Davis KL, Watson SJ. Dopamine receptor mRNA expression in human striatum and neocortex. *Neuropsychopharmacology* 1996;15:17-29.

Meikle SR, Fulton RR, Eberl S, Dahlbom M, Wong KP, Fulham MJ. An investigation of coded aperture imaging for small animal SPECT. *IEEE Trans Nucl Sci* 2001;48:816-21.

Meikle SR, Wojcik R, Weisenberger AG et al. CoALA-SPECT: a coded aperture laboratory animal SPECT system for pre clinical imaging. IEEE NSS & MIC Conference Records 2003;2: 1061-5.

Memo M, Missale C, Carruba MO, Spano PF. Pharmacology and biochemistry of dopamine receptors in the central nervous system and peripheral tissue. J Neural Transm Suppl 1986;22:19-32.

Mettler FA. Anatomy of the basal ganglia. In: Vinken PJ, Bruyn GM (Eds.), Handbook of clinical neurology, Vol. 6. North-Holland, Amsterdam, 1968;1-55.

Meyers R, Hume SP, Ashworth S et al. Quantification of dopamine receptors and transporters in rat striatum using a small animal PET scanner. In: Meyers R., Cunningham V, Bailey D, Jones T (Eds.), Quantification of brain function using PET. Academic Press, London 1996; 12-5.

Michaelis L, Menten ML. Die Kinetik der Invertinwirkung. Biochem Z 1913;49:1333

Mintun MA, Raichle ME, Kilbourn MR, Wooten GF, Welch MJ. A quantitative model for the in vivo assessment of drug binding sites with positron emission tomography. Ann Neurol 1984;15:217-27.

Mir HM, Tatsukawa KJ, Carmichael ST, Chesselet MF, Kornblum HI. Metabolic correlates of lesion-specific plasticity: an in vivo imaging study. Brain Res. 2004;1002:28-34.

Mishra RK, Marshall AM, Varmuza SL. Supersensitivity in rat cuate nucleus: effects of 6hydroxydopamine on the time course of dopamine receptor and cyclic AMP changes. Brain Res 1980;200:47-57.

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. Physiol Rev 1998;78:189-225.

Missimer J, Madi Z, Honer M, Keller C, Schubiger A, Ametamey SM. Performance evaluation of the 16-module quad-HIDAC small animal PET camera. *Phys Med Biol*. 2004;49:2069-81.

Miyata M, Sasaki K. Horseradish peroxidase studies on thalamic and striatal connections of the mesial part of area 6 in the monkey. *Neurosci Lett* 1984;49:127-33.

Moerlein SM, Laufer P, Stocklin G, Pawlik G, Wienhard K, Heiss WD. Evaluation of ⁷⁵Br-labelled butyrophenone neuroleptics for imaging cerebral dopaminergic receptor areas using positron emission tomography. *Eur J Nucl Med* 1986;12:211-6.

Moerlein SM, Banks WR, Parkinson D. Production of fluorine-18 labeled (3-N-methyl)benperidol for PET investigation of cerebral receptor binding. *Appl Radiat Isot*. 1992a;43:913-917.

Moerlein SM, Perlmutter JS. Specific binding of 3N-(2'-[¹⁸F]fluoroethyl)benperidol to primate cerebral dopaminergic D₂ receptors demonstrated in vivo by PET. *Neurosci Lett* 1992b;148:97-100.

Moerlein SM, Perlmutter JS. Specific binding of 3N-(2'-[¹⁸F]fluoroethyl)benperidol to primate cerebral dopaminergic D₂ receptors demonstrated in vivo by PET. *Neurosci Lett*. 1992c; 148:97-100.

Moerlein SM, Perlmutter JS, Welch MJ. Specific, reversible binding of [¹⁸F]benperidol to baboon D₂ receptors: PET evaluation of an improved ¹⁸F-labeled ligand. *Nucl Med Biol*. 1995;22:809-815.

Moerlein SM, Perlmutter JS, Cutler PD, Welch MJ. Radiation dosimetry of [¹⁸F] (N-methyl)benperidol as determined by whole-body PET imaging of primates. *Nucl Med Biol*. 1997a; 24:311-8.

Moerlein SM, Perlmutter JS, Markham J, Welch MJ. In vivo kinetics of [18F](N-methyl)benperidol: a novel PET tracer for assessment of dopaminergic D2-like receptor binding. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1997b; 17:833-45.

Moghaddam R, Bunney BJ. Acute effects of typical and atypical antipsychotic drugs on the release of dopamine from prefrontal cortex, nucleus accumbens, and striatum of the rat: an in vivomicrodialysis study. *J Neurochem* 1990;54:1755-60.

Monsma FJ Jr, Mahan LC, McVittie LD, Gerfen CR, Sibley DR. Molecular cloning and expression of a D1 dopamine receptor linked to adenylyl cyclase activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(17):6723-7.

Montmayeur JP, Guiramand J, Borrelli E. Preferential coupling between dopamine D2 receptors and G-proteins. *Mol Endocrinol* 1993;7:161-70.

Moore TH, Osteen TL, Chatziioannou TF, Hovda DA, Cherry TR. Quantitative assessment of longitudinal metabolic changes *in vivo* after traumatic brain injury in the adult rat using FDG-microPET. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000; 20:1492-501.

Moore RY, Halaris AE, Jones BE. Serotonin neurons of the midbrain raphe: ascending projections. *J Comp Neurol* 1978;180:417-38.

Morgan S, Nomikos G, Huston JP. Behavioral analysis of asymmetries induced by unilateral 6-OHDA injections into the substantia nigra. *Behav Neural Biol.* 1993;60:241-50.

Morris ED, Yoder KK, Wang C et al. ntPET: a new application of PET imaging for characterizing the kinetics of endogenous neurotransmitter release. *Mol Imaging* 2005;4:473-89.

Moses WW, Derenzo SE. Empirical observation of resolution degradation in positron emission tomographs utilizing block detectors. *J Nucl Med* 1993; 34:101.

Müller-Gärtner HW, Links JM, Prince JL, et al. Measurement of radiotracer concentration in brain gray matter using positron emission tomography: MRI-based correction for partial volume effects. *J Cereb Blood Flow Metab* 1992;12:571-583.

Mukherjee J, Yang ZY, Lew R et al. Evaluation of d-amphetamine effects on the binding of dopamine D-2 receptor radioligand, 18F-fallypride in nonhuman primates using positron emission tomography. *Synapse* 1997;27:1-13.

Murphy GF, Sourkes TL. The action of antidecarboxylases on the conversion of 3,4-dihydroxyphenylalanine to dopamine in vivo. *Arch Biochem Biophys* 1961;93:338-43.

Myers R, Hume S, Bloomfield P, Tones T. Radio-imaging in small animals. *J Psychopharmacol*. 1999;13:352-357.

N

Nagatsu T, Levitt M, Udenfriend S. Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. *J Biol Chem* 1964;239:2910-17.

Narang N, Wamsley JK. Time dependent changes in DA uptake sites, D₁ and D₂ receptor binding and mRNA after 6-OHDA lesions of the medial forebrain bundle in the rat brain. *J Chem Neuroanat* 1995; 9:41-53.

Nauta WJH, Mehler WR. Projections of the lentiform nucleus in the monkey. *Brain Res* 1966;1:3-42.

Nauta HJW, Cole M. Efferent projections of the subthalamic nucleus: An autoradiographic study in monkey and cat. *J Comp Neurol* 1978;180:1-16.

Neumeister A, Willeit M, Praschak-Rieder N et al. Dopamine transporter availability in symptomatic depressed patients with seasonal affective disorder and healthy controls. *Psychol Med* 2001; 31:1467-73.

Neumeyer JL, Wang S, Millius RA et al. [123I]beta-carbomethoxy-3beta-(4-iodophenyl)tropane (beta-CIT): high affinity SPECT radiotracer of monoamine reuptake sites in brain. *J Med Chem* 1991;34:3144-6.

Neumeyer JL, Wang SY, Gao YG et al. N- α -fluoroalkyl analogs of (1R)-2-beta-carbomethoxy-3-beta-(4-iodophenyl)-tropane (β -CIT): Radiotracers for positron emission tomography imaging of dopamine transporters. *J Med Chem* 1994;37:1558-61.

Neve KA, Kozlowski MR, Marshall JF. Plasticity of neostriatal dopamine receptors after nigrostriatal injury: relationship to recovery of sensorimotor functions and behavioral supersensitivity. *Brain Res* 1982; 244:33-44.

Neve KA, Altar CA, Wong CA et al. Quantitative analysis of [3 H]spiroperidol binding to rat forebrain sections: plasticity of neostriatal dopamine receptors after nigrostriatal injury. *Brain Res* 1984; 302:9-18.

Neve KA, Kozlowski MR, Rosser MP. Dopamine D2 receptor stimulation of Na $^+$ /H $^+$ exchange assessed by quantification of extracellular acidification. *J Biol Chem* 1992;267:25748-53.

Nguyen TV, Brownell AL, Chen YCI et al. Detection of the effects of dopamine receptor sensitivity using pharmacological MRI and correlations with PET. *Synapse* 2000; 36:57-65.

Niehoff DL, Palacios JM, Kuhar MJ. In vivo receptor binding: attempts to improve specific/non-specific ratios. *Life Sci* 1979;25:819-26.

Nieoullon A, Kerkerian L, Dusticier N. Presynaptic controls in the neostriatum: Reciprocal interactions between the nigrostriatal dopaminergic neurons and the corticostriatal glutaminergic pathway. *Exp Brain Res* 1983; Suppl. 54:54.

Nikolaus S, Huston JP, Korber B, Thiel C, Schwarting RK. Pretreatment with neurokinin substance P but not with cholecystokinin-8S can alleviate functional deficits of partial nigrostriatal 6-hydroxydopamine lesion. *Peptides* 1997;18:1161-8.

Nikolaus S, Huston JP, Schwarting RK. Pretreatment with fragments of substance-P or with cholecystokinin differentially affects recovery from subtotal nigrostriatal 6-hydroxydopamine lesion. *Neural Plast* 1999;6:77-89.

Nikolaus S, Larisch R, Beu M, Vosberg H, Müller-Gärtner HW. Imaging of striatal dopamine D₂ receptors with a PET system for small laboratory animals in comparison with storage phosphor autoradiography: a validation study with [¹⁸F](3-N-methyl)benperidol. *J Nucl Med* 2001; 42:1691-6.

Nikolaus S, Larisch R, Beu M et al. In vivo measurement of D₂ receptor density and affinity for ¹⁸F-(3-N-methyl)benperidol in the rat striatum with a PET system for small laboratory animals. *J Nucl Med* 2003a; 44:618-24.

Nikolaus S, Larisch R, Beu M., Forutan F, Vosberg H, Müller-Gärtner HW. Bilateral increase in striatal dopamine D₂ receptor density in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat: a serial in vivo investigation with small animal PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003b; 30:390-5.

Nikolaus S, Beu M, Vosberg H, Müller HW, Larisch R. Quantitative analysis of dopamine D₂ receptor kinetics with small animal positron emission tomography. In: *Meth. Enzymol: Imaging in Biological Research*, Vol. 385, Conn, P. M. (Ed.), Elsevier, San Diego, USA, 2004a, 228-39.

Nikolaus S, Wirrwar A, Larisch R, Schramm NU, Antke C, Müller HW. A landmark-based

approach for the quantitation of receptor and transporter binding in the rat using small animal SPECT and PET. IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record 2004b;5: 3205-3208.

Nikolaus S, Wirrwar A, Antke C, Arkian S, Schramm N, Muller HW, Larisch R. Quantitation of dopamine transporter blockade by methylphenidate: first in vivo investigation using [(123)I]FP-CIT and a dedicated small animal SPECT. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2005a; 32:308-15.

Nikolaus S, Beu M, Wirrwar A, Antke C, Müller HW. In vivo snapshots of the dopaminergic synapse in small animals. Mol Psychiat 2005b;10:316-8.

Nikolaus S, Larisch R, Wirrwar A et al. [¹²³I]Iodobenzamide binding to the rat dopamine D₂ receptor in competition with haloperidol and endogenous dopamine – an in vivo imaging study with a dedicated small animal SPECT. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2005c;32:1305-10.

Nikolaus S, Wirrwar A, Kley K, Antke C, Larisch R, Müller HW. *In vivo* quantification of dose-dependent dopamine transporter blockade in the rat striatum with small animal SPECT. Submittiert.

Nikolaus S, Antke C, Kley K, Wirrwar A, Beu M, Müller HW. Pre-treatment with haloperidol reduces [¹²³I]-FP-CIT binding in the rat striatum – Pre-treatment with haloperidol reduces [¹²³I]FP-CIT binding in the rat striatum – an in vivo imaging study with a dedicated small animal SPECT. Submittiert.

Nikkhah G, Brandis A. Neurotransplantation in Parkinson disease: experimental and clinical results of functional reconstruction of the dopaminergic system. Zentralbl Neurochir 1995; 56:253-60.

Nomura S, Nizuno N, Sugimoto T. Direct projections from the pedunclopontine tegmental nucleus to the subthalamic nucleus in the cat. Brain Res 1980;196:223-7.

Nyberg S, Nilsson U, Okubo Y, Halldin C, Farde L. Implications of brain imaging for the management of schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol*. 1998;13 Suppl 3:15-20.

O

Ogawa K, Kawade T, Nakamura K, Kubo A, Ichihara T. Ultra high resolution pinhole SPECT for small animal study. *IEEE Trans Nucl Sci* 1998; 45: 3122-6.

Ogawa M, Fukuyama H, Ouchi Y, et al. Uncoupling between cortical glucose metabolism and blood flow after ibotenate lesion of the rat basal forebrain: a PET study. *Neurosci Lett* 1996; 204:193-6.

Ogawa O, Umegaki H, Ishiwata K et al. *In vivo* imaging of adenovirus-mediated over-expression of dopamine D₂ receptors in rat striatum by positron emission tomography. *Neuroreport* 2000;11:743-8.

Oh P, Li Y, Yu J et al. Subtractive proteomic mapping of the endothelial surface in lung and solid tumours for tissue-specific therapy. *Nature* 2004; 429:629-35.

Oida T, Terauchi Y, Yoshida K, Kagemoto A, Sekine Y. Use of antisera in the isolation of human specific conjugates of haloperidol. *Xenobiotica* 1989;19:781-93.

Oliver DW, Dormehl IC, Van der Schyf CJ et al. Effect of the haloperidol tetrahydropyridine metabolite 4-(4-chlorophenyl)-1-[4-(4-fluorophenyl)-4-oxobutyl]-1,2,3,6-tetrahydropyridine on dopamine receptor and transporter binding. A nonhuman primate 123I-iodobenzamide and 2beta-carbomethoxy-3beta-(4-iodophenyl)tropane single photon emission computed tomography. *Arzneimittelforschung* 1997;47:692-9.

Onali P, Olanas MC, Gessa GL. Characterization of dopamine receptors mediating inhibition of

adenylate cyclase activity in rat striatum. *Mol Pharmacol* 1985;28(2):138-45.

Onali P, Olanas MC. Involvement of adenylate cyclase inhibition in dopamine autoreceptor regulation of tyrosine hydroxylase in rat nucleus accumbens. *Neurosci Lett* 1989;102:91-6.

Onoe H, Inoue O, Suzuki K et al. Ketamine increases the striatal N-[¹¹C]methylspiperone binding *in vivo*: positron emission tomography study using conscious rhesus monkey. *Brain Res* 1994; 663:191-8.

Opacka-Juffry J, Ashworth S, Hume SP, Martin D, Brooks DJ, Blunt SB. GDNF protects against 6-hydroxydopamine lesion: *in vivo* study with microdialysis and PET. *Neuroreport* 1995; 7:348-52.

Opacka-Juffry J, Ashworth S, Sullivan AM, Banati RB, Blunt SB. Lack of permanent nigrostriatal dopamine deficit following 6-hydroxydopamine injection into the rat striatum. *J Neural Transm* 1996; 103:1429-34.

Opacka-Juffry J, Ashworth S, Ahier RG, Hume SP. Modulatory effects of L-DOPA on D₂ dopamine receptors in rat striatum, measured using *in vivo* microdialysis and PET. *J Neural Transm* 1998; 105:349-64.

Ortuño, J.E., Vaquero, J.J., Kontaxakis, G., Desco, M., Santos, A. Diseño de un tomógrafo PET para pequeños animales con geometría octagonal: estudios preliminares. *Proceedings CASEIB 2003 - XXI Annual Congress of the Spanish Society of Biomedical Engineering* 2003:183-6.

Oueslati A, Breyse N, Amalric M, Kerkerian-Le Goff L, Salin P. Dysfunction of the cortico-basal ganglia-cortical loop in a rat model of early parkinsonism is reversed by metabotropic glutamate receptor 5 antagonism. *Eur J Neurosci* 2005;22:2765-74.

Ouchi Y, Fukuyama H, Matsuzaki S et al. Compartment analysis of cerebral glucose metabolism

and *in vitro* glucose-metabolizing enzyme activities in the rat brain. Brain Res 1996a 706:267-72.

Ouchi Y, Fukuyama H, Ogawa M et al. Cholinergic projections from the basal forebrain and cerebral glucose metabolism in rats: a dynamic PET study. J Cereb Blood Flow Metab 1996b 16:34-41.

Ouchi Y, Tsukada H, Takiuchi T, Nishiyama S, Futatsubashi M. Changes in cerebral blood flow and postsynaptic muscarinic cholinergic activity in rats with bilateral carotid artery ligation. J Nucl Med 1998; 39:198-202.

Ouchi Y, Kakiuchi T, Okada H, Nishiyama S, Tsukada H. The effect of aniracetam on cerebral glucose metabolism in rats after lesioning of the basal forebrain measured by PET. J Neurol Sci 1999; 164:7-12.

Oyama N, Kim J, Jones LA, Mercer NM, Engelbach JA, Sharp TL, Welch MJ. MicroPET assessment of androgenic control of glucose and acetate uptake in the rat prostate and a prostate cancer tumor model. Nucl Med Biol. 2002;29:783-90.

Oyama N, Ponde DE, Dence C, Kim J, Tai YC, Welch MJ. Monitoring of therapy in androgen-dependent prostate tumor model by measuring tumor proliferation. J Nucl Med. 2004;45:519-25.

P

Packard MG, White NM. Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by posttraining intracerebral injection of dopamine agonists. Behav Neurosci 1991;105:295-306.

Palm S, Enmon RM Jr, Matei C et al. Pharmacokinetics and Biodistribution of (86)Y-Trastuzumab for (90)Y dosimetry in an ovarian carcinoma model: correlative MicroPET and MRI. J Nucl Med. 2003;44:1148-55.

Pan HS, Penney JB, Young AB. Gamma-aminobutyric acid and benzodiazepine receptor changes induced by unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the medial forebrain. *J Neurochem* 1985; 45:1396-404.

Pape BE. Isolation and identification of a metabolite of haloperidol. *J Anal Toxicol* 1981;5:113-7.

Parent A, Lavoie B, Smith Y, Bedard PJ. The dopaminergic nigropallidal projection in primates: Distinct cellular origin and relative sparing in MPTP-treated monkeys. In: Streifler MB, Korszyn AD, Melamed E, Youdim MBH. (Eds.), *Parkinson's disease: Anatomy, pathology, and therapy*. *Adv. Neurol.*, 53, Raven Press, New York, 1990;111-6.

Parsons LH, Caine SB, Sokoloff P, Schwartz JC, Koob GF, Weiss F. Neurochemical evidence that postsynaptic nucleus accumbens D3 receptor stimulation enhances cocaine reinforcement. *J Neurochem* 1996;67:1078-89.

Pasik P, Pasik T, DiFiglia M. The internal organization of the neostriatum in mammals. In: Divac I, Oberg RGE. (Eds.), *The neostriatum*. Pergamon Press, New York, 1979;5-36.

Pasik P, Pasik T, Holstein GR. The ultrastructural chemoanatomy of the basal ganglia: 1984-1989 I: The neostriatum. In: Bernardi G, Carpenter MB, DiChiara G, Morelli M, Stanzione P (Eds.), *Basal ganglia III*. Plenum, New York, 1991;187-197.

Patrick KS, Kilts CD, Breese GR. Synthesis and pharmacology of hydroxylated metabolites of methylphenidate. *J Med Chem* 1981;24:1237-40.

Patrick KS, Caldwell RW, Ferris RM, Breese GR. Pharmacology of the enantiomers of threo-methylphenidate. *J Pharmacol Exp Ther* 1987;241:152-8.

Pehek EA, Yamamoto BK. Differential effects of locally administered clozapine and haloperidol

on dopamine efflux in the rat prefrontal cortex and caudate-putamen. J Neurochem 1994;63:2118-24.

Pehek EA. Comparison of effects of haloperidol administration on amphetaminestimulated dopamine release in the rat medial prefrontal cortex and dorsal striatum. J Pharmacol Exp Ther 1999;289:14-23.

Perlmutter JS, Larson KB, Raichle ME et al. Strategies for in vivo measurement of receptor binding using positron emission tomography. J Cereb Blood Flow Metab 1986; 6:154-69.

Peroutka SJ, U'Prichard DC, Greenberg DA, Snyder SH. Neuroleptic drug interactions with norepinephrine alpha receptor binding sites in rat brain. Neuropharmacology 1977;16:549-56.

Peroutka SJ, Synder SH. Relationship of neuroleptic drug effects at brain dopamine, serotonin, alpha-adrenergic, and histamine receptors to clinical potency. Am J Psychiatry 1980;137:1518-22.

Pert CB, Kuhar MJ, Snyder SH. Opiate receptors: Autoradiographic localization in rat brain. Proc Natl Acad Sci USA 1976;73:3729-33.

Peter J, Reuhle H, Stamm V et al. Development and initial results of a dual-modality SPECT/optical small animal imager. *Persönliche Mitteilung von Dr. J. Peter.*

Phelps ME, Mazziotta JC, Schelbert HR. Positron emission tomography and autoradiography: principles and applications for the brain and heart. Raven Press, New York, 1986.

Phelps ME. The merging of biology and imaging into molecular imaging. J Nucl Med 2000; 41:661-81.

Phillips GD, Robbins TW, Everitt BJ. Bilateral intra-accumbens self-administration of d-amphetamine: antagonism with intra-accumbens SCH-23390 and sulpiride. *Psychopharmacology* 1994;114:477-85.

Phillips PE, Stamford JA. Differential recruitment of N-, P- and Q-type voltage-operated calcium channels in striatal dopamine release evoked by 'regular' and 'burst' firing. *Brain Res* 2000;884:139-46.

Phillipson OT. Afferent projections to the ventral tegmental area of Tsai and interfascicular nucleus: a horseradish peroxidase study in the rat. *J Comp Neurol*. 1979;187:117-43.

Phlips, B.F., Kroeger, R.A., Kurfess, J.D., Johnson, W.N., Wulf, E.A., Novikova, E.I.: Small animal PET imaging with germanium strip detectors. *IEEE NSS & MIC Conference Record* 2002; 3:1438-42.

Piccini P, Turjanski N, Brooks DJ. PET studies of the striatal dopaminergic system in Parkinson's disease (PD). *J Neural Transm Suppl* 1995;45:123-31.

Pirker W, Djamshidian S, Asenbaum S. Progression of dopaminergic degeneration in Parkinson's disease and atypical parkinsonism: a longitudinal beta-CIT SPECT study. *Mov Disord* 2002; 17:45-53.

Potenza MN, Graminski GF, Schmauss C, Lerner MR. Functional expression and characterization of human D2 and D3 dopamine receptors. *J Neurosci* 1994;14:1463-76.

Prast H, Heistracher M, Philippu A. Modulation by dopamine receptors of the histamine release in the rat hypothalamus. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1993;347:301-5.

Price J, Mason NS, Lopresti B et al. PET measurement of endogenous neurotransmitter activity using high and low affinity radiotracers. In; Carson R, Daube-Witherspoon ME, Herscovitch P

(eds.), Quantitative functional brain imaging with positron emission tomography. Academic Press, San Diego 1998;441-8.

Primus RJ, Thurkauf A, Xu J et al. II. Localization and characterization of dopamine D4 binding sites in rat and human brain by use of the novel, D4 receptor-selective ligand [3H]NGD 94-1. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;282:1020-7.

Pritzel M, Huston JP. Unilateral ablation of telencephalon induces appearance of contralateral cortical and subcortical projections to thalamic nuclei. *Behav Brain Res* 1981;3:43-54.

Pritzel M, Huston JP, Sarter M. Behavioral and neuronal reorganization after unilateral substantia nigra lesions: evidence for increased interhemispheric nigrostriatal projections. *Neuroscience* 1983;9:879-88.

Probst WC, Snyder LA, Schuster DI, Brosius J, Sealfon SC. Sequence alignment of the G-protein coupled receptor superfamily. *DNA Cell Biol* 1992;11:1-20.

Przedborski S, Levivier M, Jiang H et al. Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine. *Neuroscience* 1995; 67:631-47.

R

Ray P, Wu AM, Gambhir SS. Optical bioluminescence and positron emission tomography imaging of a novel fusion reporter gene in tumor xenografts of living mice. *Cancer Res*. 2003;63:1160-5.

Reiche W, Grundmann M, Huber G. Dopamine (D2) receptor SPECT with 123I-iodobenzamide (IBZM) in diagnosis of Parkinson syndrome. *Radiologe* 1995;35:838-43.

Reneman L, De Bruin K, Lavalaye J, Gunning WB, Booij J. Addition of a 5-HT receptor agonist to methylphenidate potentiates the reduction of [¹²³I]FP-CIT binding to dopamine transporters in rat frontal cortex and hippocampus. *Synapse* 2001; 39:193-200.

Reynolds GP, Mason SL. Are striatal dopamine D4 receptors increased in schizophrenia? *J Neurochem* 1994;63:1576-7.

Rinne JO, Laihinen A, Nagren K et al. PET demonstrates different behaviour of striatal dopamine D-1 and D-2 receptors in early Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 1990;27:494-9.

Rinne UK, Laihinen A, Rinne JO, Nagren K, Bergman J, Ruotsalainen U. Positron emission tomography demonstrates dopamine D2 receptor supersensitivity in the striatum of patients with early Parkinson's disease. *Mov Disord* 1990;5:55-9.

Ritz MC, Lamb RJ, Goldberg SR, Kuhar MJ. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science* 1987; 237:1219-23.

Robinson SW, Caron MG. Chimeric D2/D3 dopamine receptors efficiently inhibit adenylyl cyclase in HEK 293 cells. *J Neurochem* 1996;67:212-9.

Rogers BE, Bigott HM, McCarthy DW et al. MicroPET imaging of a gastrin-releasing peptide receptor-positive tumor in a mouse model of human prostate cancer using a ⁶⁴Cu-labeled bombesin analogue. *Bioconjug Chem*. 2003 ;14:756-63.

Ross SB, Jackson DM. Kinetic properties of the in vivo accumulation of 3H-(-)-N-n-propylnorapomorphine in mouse brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1989a;340:13-20.

Ross SB, Jackson DM. Kinetic properties of the accumulation of 3H-raclopride in the mouse brain in vivo. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1989b;340:6-12.

Rothman RB, Lewis B, Dersch C et al. Identification of a GBR12935 homolog, LR1111, which is over 4,000-fold selective for the dopamine transporter, relative to serotonin and norepinephrine transporters. *Synapse* 1993;14:34-9.

Rowe RK, Aarsvold JN, Barrett HH. A stationary hemispherical SPECT imager for three-dimensional brain imaging. *J Nucl Med* 1993; 34:474-80.

Rouze NC, Winkle W, Hutchins GD. Indy-PET – A high resolution, high sensitivity dedicated research scanner. *IEEE NSS & MIC Conference Record* 1999; M10-36.

Rouze NC, Hutchins GD. Design and characteristics of Indy-PETII: A high-resolution, high-sensitivity dedicated research scanner. *IEEE Trans Nucl Sci* 2003;50:1491-7.

Rubins DL, Meleaga WP, Cherry SR, Lacan G. Quantitation of striatal dopamine transporter in the rat with [^{11}C]-WIN 35,428 and microPET. *J Nucl Med* 1999; 40:261.

Russchen FT, Amaral DG, Price JL. The afferent input to the magnocellular division of the mediodorsal thalamic nucleus in the monkey, *Macaca Fascicularis*. *J Comp Neurol* 1987; 253:1-36.

S

Saji H, Iida Y, Kawashima H et al. In vivo imaging of brain dopaminergic neurotransmission system in small animals with high-resolution single photon emission computed tomography. *Anal Sci* 2003;19:67-71.

Salah RS, Kuhn DM, Galloway MP. Dopamine autoreceptors modulate the phosphorylation of tyrosine hydroxylase in rat striatal slices. *J Neurochem* 1989;52:1517-22.

Samuel D, Errami M, Nieoullon A. Localization of N-methyl-D-aspartate receptors in the rat striatum: Effects of specific lesions on the (³H)3-(2-carboxypiperazin-4yl)propyl-1-phosphonic acid binding. *J Neurochem* 1990;54:1926-33.

Saner A, Thoenen H. Contributions to the molecular mechanism of action of 6-hydroxydopamine. In: Malmfors T, Thoenen H. (Eds.), 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons. North-Holland, Amsterdam, 1971;265-75.

Santiago M, Westerink BHC. The regulation of dopamine release from nigrostriatal neurons in conscious rats: the role of somatodendritic autoreceptors. *Eur J Pharmacol* 1991 ;204:79-84.

Satterfield JH, Dawson ME. Electrodermal correlates of hyperactivity in children. *Psychophysiology* 1971;8:191-7.

Savasta M, Mennicken F, Chritin M et al. Intrastratial dopamine-rich implants reverse the changes in dopamine D2 receptor densities caused by 6- hydroxydopamine lesion of the nigrostriatal pathway in rats: an autoradiographic study. *Neuroscience* 1992;46:729-38.

Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS. D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science* 1991;251:947-50.

Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS. The role of D1-dopamine receptor in working memory: local injections of dopamine antagonists into the prefrontal cortex of rhesus monkeys performing an oculomotor delayed-response task. *J Neurophysiol* 1994;71:515-28.

Sawle GV, Playford ED, Brooks DJ et al. Asymmetrical pre-synaptic and post-synaptic changes in the striatal dopamine projection in dopa naive parkinsonism: diagnostic implications of the D₂ receptor status. *Brain* 1993;116: 853-67.

Scatton B, Lehmann J. N-methyl-D-aspartate-type receptors mediate striatal 3H-acetylcholine

release evoked by excitatory amino acids. *Nature* 1982;297:422-4.

Scatton B. Excitatory amino acid and GABA influence on rat striatal cholinergic transmission. In: Sandler M. (Ed.), *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia*. Raven Press, New York, 1987;121-31.

Schaffer CB, Shahid A, Javaid JI, Dysken MW, Davis JM. Bioavailability of intramuscular versus oral haloperidol in schizophrenic patients. *J Clin Psychopharmacol* 1982;2:274-7.

Schallert T, Norton D, Jones TA. A clinically relevant unilateral rat model of parkinsonian akinesia. *J Neural Transpl Plast* 1992;3:332-3.

Scheffel U, Steinert C, Kim SE, Ehlers MD, Boja JW, Kuhar MJ. Effect of dopaminergic drugs on the in vivo binding of [3H]WIN 35,428 to central dopamine transporters. *Synapse* 1996;23:61-9.

Scheffel U, Lever JR, Abraham P et al. N-substituted phenyltropanes as in vivo binding ligands for rapid imaging studies of the dopamine transporter. *Synapse* 1997;25:345-9.

Schelosky L, Hierholzer J, Wissel J, Cordes M, Poewe W. Correlation of clinical response in apomorphine test with D2-receptor status as demonstrated by 123I IBZM-SPECT. *Mov Disord* 1993;8:453-8.

Scherer A, Ostendorf B, Schramm NU et al. Einsatz der Multipinhole-SPECT-Technik zur Messung entzündlicher Gelenkveränderungen im Arthritis-Maus-Modell. *Nuklearmedizin* 2004;44:P395.

Scherfler C, Donnemiller E, Schocke M et al. Evaluation of striatal dopamine transporter function in rats by in vivo beta-[123I]CIT pinhole SPECT. *Neuroimage* 2002;17:128-41.

Scherfler C, Scholz SW, Donnemiller E et al. Evaluation of [(123)I]IBZM pinhole SPECT for the detection of striatal dopamine D(2) receptor availability in rats. *Neuroimage*. 2005;24:822-31

Schiffer WK, Volkow ND, Fowler JS, Alexoff DL, Logan J, Dewey SL. Therapeutic doses of amphetamine or methylphenidate differentially increase synaptic and extracellular dopamine. *Synapse* 2006;59:243-51.

Schlicker E, Fink K, Detzner M, Göthert M. Histamine inhibits dopamine release in the mouse striatum via presynaptic H3 receptors. *J Neural Transm* 1993;93:1-10.

Schmidt RF. Motorische Systeme. In: Schmidt RF, Thews G. (Hrsg.), *Physiologie des Menschen*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1983;87-118.

Schmitt GJ, Meisenzahl EM, Frodl T et al. The striatal dopamine transporter in first-episode, drug-naïve schizophrenic patients: evaluation by the new SPECT-ligand[99mTc]TRODAT-1. *J Psychopharmacol* 2005;19:488-93.

Schmitz Y, Benoit-Marand M, Gonon F, Sulzer D. Presynaptic regulation of dopaminergic neurotransmission. *J Neurochem* 2003;87:273-89.

Schramm N, Wirtz A, Sonnenberg F, Halling H. Compact high resolution detector for small animal SPECT. *IEEE Trans Nucl Sci* 2000; 47:1163-6.

Schramm NU, Ebel G, Engeland U et al. High-resolution SPECT using multipinhole collimation. *IEEE Trans Nucl Sci* 2003;50:315-20.

Schurrat T, Alfke H, Behe M et al. Molecular gastrin receptor localisation in mice using high-resolution SPET-MRI image fusion. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:800.

Schwartz RK, Bonatz AE, Carey RJ, Huston JP. Relationships between indices of behavioral asymmetries and neurochemical changes following mesencephalic 6- hydroxydopamine injections. *Brain Res.* 1991;554:46-55.

Schwartz RK, Huston JP. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog Neurobiol.* 1996;50:275-331.

Schwartz RK, Huston JP. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae. *Prog Neurobiol.* 1996;49:215-66.

Schwarz J, Tatsch K, Arnold G et al. 123I-iodobenzamide-SPECT predicts dopaminergic responsiveness in patients with de novo parkinsonism. *Neurology* 1992;42:556-61.

Seeman P, Chau-Wong M, Tedesco J, Wong K. Brain receptors for antipsychotic drugs and dopamine: direct binding assays. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:4376-80.

Seeman P, Lee T. Antipsychotic drugs: direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons. *Science* 1975;188:1217-9.

Seeman P, Lee T, Chau-Wong M, Wong K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature* 1976;261:717-9.

Seeman P, Watanabe M, Grigoriadis D et al. Dopamine D2 receptor binding sites for agonists. A tetrahedral model. *Mol Pharmacol* 1985;28:391-9.

Seeman P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse* 1987;1:133-52.

Seeman P, Grigoriadis D. Dopamine receptors in brain and periphery. *Neurochem Int* 1987; 10:1-25.

Seeman P, Guan HC, Niznik HB. Endogenous dopamine lowers the dopamine D2 receptor density as measured by [3H]raclopride: implications for positron emission tomography of the human brain. *Synapse* 1989;3:96-7.

Seeman P, Niznik HB, Guan HC, Booth G, Ulpian C. Link between D1 and D2 dopamine receptors is reduced in schizophrenia and Huntington diseased brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:10156-60.

Seeman P, Niznik HB, Guan HC. Elevation of dopamine D2 receptors in schizophrenia is underestimated by radioactive raclopride. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:1170-2.

Seeman P, Guan HC, Van Tol HH. Dopamine D4 receptors elevated in schizophrenia. *Nature* 1993;365:441-5.

Seeman P, Madras BK. Anti-hyperactivity medication: methylphenidate and amphetamine. *Mol Psychiatry* 1998;3:386-96.

Self DW, Barnhart WJ, Lehman DA, Nestler EJ. Opposite modulation of cocaine-seeking behavior by D1- and D2-like dopamine receptor agonists. *Science* 1996;271:1586-9.

Seibyl JP, Woods SW, Zoghbi SS et al. Dynamic SPECT imaging of dopamine D₂ receptors in human subjects with iodine-123-IBZM. *J Nucl Med* 1992;33:1964-71.

Seibyl JP, Marek K, Sheff K, Zoghbi S, Baldwin RM, Charney DS, Van Dyck CH, Innis RB. Iodine-123-beta-CIT and iodine-123-FPCIT SPECT measurement of dopamine transporters in healthy subjects and Parkinson's patients. *J Nucl Med* 1998; 39:1500-8.

Senogles SE. The D2 dopamine receptor isoforms signal through distinct Gi alpha proteins to

inhibit adenylyl cyclase. A study with site-directed mutant Gi alpha proteins. J Biol Chem 1994;269:23120-7.

Senoh S, Creveling CR, Udenfried S, Witkop B. Chemical, enzymatic and metabolic studies on the mechanism of oxidation of dopamine. J Am Chem Soc 1959;81:6236-40.

Senoh S, Witkop B. Formation and rearrangements of aminochromes from a new metabolite of dopamine and some of its derivatives. J Am Chem Soc 1959;81:6231-5.

Seidel J, Gandler WR, Green MV. A very high resolution single-slice small animal PET scanner based on direct detection of coincidence line endpoints. J Nucl Med 1994; 35:40.

Seidel J, Vaquero JJ, Green MV. Resolution uniformity and sensitivity of the NIH ATLAS small animal PET scanner: comparison to simulated LSO scanners without depth-of-interaction capability. IEEE Trans Nucl Sci 2003;90:1347-51.

Serra G, Argiolas A, Klimek V, Fadda F, Gessa GL. Chronic treatment with antidepressants prevents the inhibitory effect of small doses of apomorphine on dopamine synthesis and motor activity. Life Sci 1979;25:415-23.

Sesack SR, Aoki C, Pickel VM. Ultrastructural localization of D2 receptor-like immunoreactivity in midbrain dopamine neurons and their striatal targets. J Neurosci 1994;14:88-106.

Shokouhi S, Vaska P, Schlyer DJ et al. System performance simulations of the RatCAP awake rat brain scanner. IEEE NSS & MIC Conference Record 2003;4: 2247-51.

Sidhu A, Sullivan M, Kohout T, Balen P, Fishman PH. D1 dopamine receptors can interact with both stimulatory and inhibitory guanine nucleotide binding proteins. J Neurochem 1991;57:1445-51.

Siegel S, Vaquero JJ, Aloj L et al. Initial results from a PET/planar small animal imaging system. IEEE Trans Nucl Sci 1999; 46:571-5.

Silverstone T. Dopamine in manic depressive illness. A pharmacological synthesis. J Affect Disord 1985;8:225-31.

Singhaniyom W, Tsai YF, Brücke T et al. Blockade of in vivo binding of ¹²⁵I-labeled 3-iodobenzamide (IBZM) to dopamine receptors by D₂ antagonists and agonists. Brain Res 1988;453:393-6.

Sjoholm H, Bratlid T, Sundsfjord J. 123I-beta-CIT SPECT demonstrates increased presynaptic dopamine transporter binding sites in basal ganglia in vivo in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004;173:27-31.

Slomka PJ. Software approach to merging molecular with anatomic information. J Nucl Med 2004;45 Suppl 1:36S-45S.

Smith AD, Smith DL, Zigmond MJ, Amalric M, Koob GF. Differential effects of dopamine receptor subtype blockade on performance of rats in a reaction-time paradigm. *Psychopharmacology* 2000;148:355-60.

Smith M, Wolf AP, Brodie JD et al. Serial [18F]N-methylspiroperidol PET studies to measure changes in antipsychotic drug D-2 receptor occupancy in schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 1988;23:653-63.

Snyder SH. Proceedings: Drugs, neurotransmitters, and psychosis. *Psychopharmacol Bull* 1974;10:4-5.

Sohlberg A, Lensu S, Jolkkonen J et al. Improving the quality of small animal brain pinhole SPECT imaging by Bayesian reconstruction. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004;31:986-94.

Sohlberg A, Jolkkonen J, Ruotasalainen U, Kuikka JT. Imaging D2 receptors in quinolinic acid lesioned rat striatum with high resolution SPECT. *Nuklearmedizin* 2005;44:N43-5.

Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Bouthenet ML, Schwartz JC. Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 1990;347:146-51.

Sokoloff P, Schwartz JC. Novel dopamine receptors half a decade later. *Trends Pharmacol Sci* 1995;16:270-5.

Soudijn W, van Wijngaarden I, Allewijn F. Distribution, excretion and metabolism of neuroleptics of the butyrophenone type. *Eur J Pharmacol* 1967;1:47-57.

Spanagel R, Herz A, Shippenberg TS. Opposing tonically active endogenous opioid systems modulate the mesolimbic dopaminergic pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:2046-50.

Spano PF, Govoni S, Trabucchi M. Studies on the pharmacological properties of dopamine receptors in various areas of the central nervous system. *Adv Biochem Psychopharmacol* 1978;19:155-65.

Spencer HJ. Antagonism of cortical excitation of striatal neurons by glutamic acid diethylester: evidence for glutamic acid as an excitatory transmitter in the rat striatum. *Brain Res* 1976;102:91-101.

Staley JK, Mash DC. Adaptive increase in D3 dopamine receptors in the brain reward circuits of human cocaine fatalities. *J Neurosci* 1996;16:6100-6.

Srinivas NR, Hubbard JW, Quinn D, Midha KK. Enantioselective pharmacokinetics and pharmacodynamics of dl-threo-methylphenidate in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Clin Pharmacol Ther* 1992;52:561-8.

Staffen W, Mair A, Unterrainer J, Trinka E, Ladurner G. Measuring the progression of idiopathic Parkinson's disease with [123I]-beta-CIT-SPECT. *J Neural Transm* 2000; 107:543-52.

Staunton DA, Wolfe BB, Groves PM, Molinoff PB. Dopamine receptor changes following destruction of the nigrostriatal pathway: lack of a relationship to rotational behavior. *Brain Res* 1981; 211:315-327.

Steinbusch HWM, Sauren Y, Groenewegen H, Watanabe T, Mulder AH. Histaminergic projections from the premammillary and posterior hypothalamic region to the caudate-putamen complex in the rat. *Brain Res* 1986;368:389-93.

Steiner H, Bonatz AE, Huston JP, Schwarting R. Lateralized wall-facing versus turning as measures of behavioral asymmetries and recovery of function after injection of 6-hydroxydopamine into the substantia nigra. *Exp Neurol*. 1988;99:556-66.

Stone CA, Porter CC, Stavorski JM, Ludden CT, Totaro JA. Antagonism of certain effects of catecholamine-depleting agents by antidepressant and related drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1964;144:196-204.

Stoof JC, Kebabian JW. Two dopamine receptors: biochemistry, physiology and pharmacology. *Life Sci* 1984;35:2281-96.

Strand SE, Ivanovic M, Erlandsson K. High resolution pinhole SPECT for tumor imaging. *Acta Oncol* 1993; 32:861-7.

Suehiro M, Dannals RF, Scheffel U et al. In vivo labeling of the dopamine D2 receptor with N-11C-methyl-benperidol. *J Nucl Med* 1990;31:2015-21.

Sullivan AM, Opacka-Juffry J, Blunt SB. Long-term protection of the rat nigrostriatal dopaminergic system by glial cell line-derived neurotrophic factor against 6-hydroxydopamine *in*

vivo. Eur J Neurosci 1998; 10:57-63.

Sunahara RK, Guan HC, O'Dowd BF. Cloning of the gene for a human dopamine D5 receptor with higher affinity for dopamine than D1. Nature 1991;350:614-9.

Sundaresan G, Paulmurugan R, Berger F et al. MicroPET imaging of Cre-loxP-mediated conditional activation of a herpes simplex virus type 1 thymidine kinase reporter gene. Gene Ther. 2004 ;11:609-18.

Surmeier DJ, Vargas J, Hemmings HC Jr, Nairn AC, Greengard P. Modulation of calcium currents by a D1 dopaminergic protein kinase/phosphatase cascade in rat neostriatal neurons. Neuron 1995;14:385-97.

Surti, S. Karp, J.S. Perkins, A.E. Freifelder, R. Muehllehner, G. Design evaluation of A-PET: A high sensitivity animal PET camera. IEEE Trans Nucl Sci. 2003;50: 1357- 63.

Suzuki M, Hurd YL, Sokoloff P, Schwartz JC, Sedvall G. D3 dopamine receptor mRNA is widely expressed in the human brain. Brain Res 1998;779:58-74.

Suzuki M, Hatano K, Sakiyama Y, Kawasumi J, Kato T, Ito K. Age-related changes of dopamine D₁-like and D₂-like receptor binding in the F344/N rat striatum revealed by positron emission tomography and *in vitro* receptor autoradiography. Synapse 2001; 41:285-93.

Szporny L, Gorog P. Investigations into the correlations between monoamine oxidase inhibition and other effects due to methylphenidate and its stereoisomers. Biochem Pharmacol 1961;8:263-8.

T

Tai YC, Chatziioannou A, Siegel S et al. Performance evaluation of the microPET P4: a PET

system dedicated to animal imaging. *Phys Med Biol* 2001; 46:1845-62.

Tai YC, Ruangma A, Rowland D et al. Performance evaluation of the microPET focus: a third-generation microPET scanner dedicated to animal imaging. *J Nucl Med* 2005;46:455-63.

Takada M, Hattori T. Organization of ventral tegmental area cells projecting to the occipital cortex and forebrain in the rat. *Brain Res.* 1987;418:27-33.

Tang L, Todd RD, Heller A, O'Malley KL. Pharmacological and functional characterization of D2, D3 and D4 dopamine receptors in fibroblast and dopaminergic cell lines. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:495-502.

Tassin JP, Stinus L, Simon H et al. Relationship between the locomotor hyperactivity induced by A10 lesions and the destruction of the fronto-cortical dopaminergic innervation in the rat. *Brain Res* 1978;141:267-81.

Tavernier S, Bruyndonckx, Shuping Z. A fully 3D small PET scanner. *Phys Med Biol* 1992; 37:635-43.

Taylor SJ, Barrett HH, Zinn KR. Small animal single photon emission computed tomography using a lens-coupled CCD camera. *Mol Imaging Biol* 2004;6:109.

Thal L, Mishra RK, Gardner EL, Horowitz SG, Varmuza S, Makman MH. Dopamine antagonist binding increases in two behaviorally distinct striatal denervation syndromes. *Brain Res* 1979;170:381-6.

Thanos PK, Taintor NB, Alexoff D et al. In vivo comparative imaging of dopamine D2 knockout and wild-type mice with (11)C-raclopride and microPET. *J Nucl Med.* 2002;43:1570-7.

Theodorou A, Reavill C, Jenner P, Marsden CD. Kainic acid lesions of striatum and decortication

reduce specific [³H]sulpiride binding in rats, so D-2 receptors exist post-synaptically on corticostriate afferents and striatal neurons. J Pharm Pharmacol 1981;33:439-44.

Thoenen H, Tranzer JP. Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-hydroxydopamine. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol Exp Pathol 1968;261:271-88.

Thoenen H, Tranzer JP, Häusler G. Chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine. In: Schürmann MT, Kroneber G. (Eds.), New aspects of storage and release mechanisms of catecholamines. Springer-Verlag, Berlin, 1970;130-43.

Thomas KL, Rose S, Jenner P, Marsden CD. Dissociation of the striatal D-2 dopamine receptor from adenylyl cyclase following 6-hydroxydopamine-induced denervation. Biochem Pharmacol 1992;44:73-82.

Thompson, C.J., Murthy, K., Picard, Y., Weinberg, I.N., Mako, R. Positron emission tomography (PEM): A promising technique for detecting breast cancer. IEEE Trans Nucl Sci 1995;42:1012-7.
Thomson JA, Marshall VS. Primate embryonic stem cells. Curr Top Dev Biol 1998; 38:133-65.

Toga AW, Santori EM, Hazani R, Ambach K. A 3D digital map of rat brain. Brain Res Bull 1995;38:77-85.

Tomitani T, Nohara N, Murayama H, Yamamoto M, Tanaka B. Development of a high resolution positron CT for animal studies. IEEE Trans Nucl Sci 1985; NS-32:822-5.

Torres EM, Fricker RA, Hume SP et al. Assessment of striatal graft viability in the rat *in vivo* using a small diameter PET scanner. Neuroreport 1995; 6:2017-21.

Tranzer JP, Thoenen H. Ultra-morphologische Veränderungen der sympathischen Nervenendigungen der Katze nach Vorbehandlung mit 5- und 6-Hydroxydopamin. Naunyn-

Schmiedebergs Arch Pharmacol Exp Pathol 1967;257:343-4.

Tranzer JP. Discussion of the mechanism of action of 6-hydroxydopamine at a fine structural level. In: Malmfors T, Thoenen H. (Eds.), 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons. North-Holland, Amsterdam, 1971;257-64.

Tsukada H, Kreuter J, Maggos CE et al. Effects of binge pattern cocaine administration on dopamine D₁ and D₂ receptors in the rat brain: an *in vivo* study using positron emission tomography. J Neurosci 1996; 16:7670-7.

Tsukada H, Nishiyama S, Kakiuchi T et al. Isoflurane anesthesia enhances the inhibitory effects of cocaine and GBR12909 on dopamine transporter: PET studies in combination with microdialysis in the monkey brain. Brain Res. 1999; 849:85-96.

Tune LE, Wong DF, Pearlson G et al. Dopamine D₂ receptor density estimates in schizophrenia: a positron emission tomography study with 11C-N-methylspiperone. Psychiatry Res 1993;49:219-37.

Turjanski N, Lees AJ, Brooks DJ. In vivo studies on striatal dopamine D₁ and D₂ site binding in L-dopa-treated Parkinson's disease patients with and without dyskinesias. Neurology 1997;49:717-23.

Tuy HK. An inversion formula for cone-beam reconstruction. SIAM J Appl Math 1983;43:546-552.

Tyndale RF, Kalow W, Inaba T. Oxidation of reduced haloperidol to haloperidol: involvement of human P450IID6 (sparteine/debrisoquine monooxygenase). Br J Clin Pharmacol 1991;31:655-60.

U

Ugur O, Kothari PJ, Finn RD et al. Ga-66 labeled somatostatin analogue DOTA-DPhe1-Tyr3-octreotide as a potential agent for positron emission tomography imaging and receptor mediated internal radiotherapy of somatostatin receptor positive tumors. *Nucl Med Biol* 2002;29:147-57.

Umegaki H, Chernak JM, Ikari H, Roth GS, Ingram DK. Rotational behavior produced by adenovirus-mediated gene transfer of dopamine D2 receptor into rat striatum. *Neuroreport* 1997; 8:3553-8.

Umegaki H, Ishiwata K, Ogawa O et al. In vivo assessment of adenoviral vector-mediated gene expression of dopamine D₂ receptors in the rat striatum by positron emission tomography. *Synapse* 2002; 43:195-200.

Undie AS, Friedman E. Stimulation of a dopamine D1 receptor enhances inositol phosphates formation in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;253:987-92.

Ungerstedt U. 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurones. *Eur J Pharmacol* 1968;5:107-10.

Ungerstedt U. Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behaviour. *Acta Physiol Scand* 1971;Suppl 367:49-68.

Ungerstedt U. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand* 1991; 367:69-93.

Unis AS, Dawson TM, Gehlert DR, Wamsley JK. Autoradiographic localization of [3H]methylphenidate binding sites in rat brain. *Eur J Pharmacol* 1985;113:155-7.

Unterwald EM, Tsukada H, Kakiuchi T, Kosugi T, Nishiyama S, Kreek MJ. Use of positron

emission tomography to measure the effects of nalmefene on D₁ and D₂ dopamine receptors in rat brain. *Brain Res* 1997; 775:183-8.

V

van Dyck CH, Quinlan DM, Cretella LM et al. Unaltered dopamine transporter availability in adult attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 2002;159:309-12.

van Royen E, Verhoeff NF, Speelman JD, Wolters EC, Kuiper MA, Janssen AG. Multiple system atrophy and progressive supranuclear palsy. Diminished striatal D₂ dopamine receptor activity demonstrated by ¹²³I-IBZM single photon emission computed tomography. *Arch Neurol* 1993;50:513-6.

Valda Ochoa A, Ploux L, Mastrippolito R et al. An original emission tomograph for *in vivo* brain imaging of small animals. *IEEE Trans Nucl Sci* 1997; 44:1533-7.

Valentijn JA, Vaudry H, Cazin L. Multiple control of calcium channel gating by dopamine D₂ receptors in frog pituitary melanotrophs. *Ann N Y Acad Sci* 1993;680:211-28.

Vallar L, Muca C, Magni M et al. Differential coupling of dopaminergic D₂ receptors expressed in different cell types. Stimulation of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysis in LtK-fibroblasts, hyperpolarization, and cytosolic-free Ca²⁺ concentration decrease in GH4C1 cells. *J Biol Chem* 1990;265:10320-6.

Vaquero J, Molins A, Ortuno J, Pascau J, Desco M. Preliminary results of the small animal rotational positron emission tomography scanner. *Mol Imaging Biol.* 2004; 6:102.

Varagic VM, Kazic T. The acute effect of 6-hydroxydopamine on the blood pressure responses to eserine and tyramine in the rat. *Neuropharmacology* 1970;9:97-102.

Verhoeff NPLG, Speelman JD, Van Royen EA et al. In vivo dopamine D₂-receptor imaging with I-123 Iodobenzamide SPECT in patients with multiple system atrophy. *Eur J Nucl Med* 1990; 16:520.

Verhoeff NPLG, Bobeldijk M, Feenstra MGP et al. In vitro and in vivo D₂-dopamine receptor binding with ((¹²³I)IBZM) in rat and human brain. *Int J Rad Appl Instrum B* 1991a;18:837-46.

Verhoeff NPLG, van Royen EA, van Royen N et al. Dopamine D₂-receptor imaging with dynamic I-123 iodobenzamide SPECT in healthy human volunteers. *J Nucl Med* 1991b;32:1078.

Vieussens R. *Neurographia universalis*. J. Certe, Lyon, 1685.

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS et al. Imaging endogenous dopamine competition with [11C]raclopride in the human brain. *Synapse* 1994;16:255-62

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS et al. Relationship between psychostimulant-induced "high" and dopamine transporter occupancy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:10388-92.

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS et al. Decreased striatal dopaminergic responsiveness in detoxified cocaine-dependent subjects. *Nature* 1997; 386: 830-3.

Volkow ND, Wang GJ, Fischman MW et al. Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy. *Nature* 1997;386:827-30.

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS et al. Dopamine transporter occupancies in the human brain induced by therapeutic doses of oral methylphenidate. *Am J Psychiatry* 1998;155:1325-31.

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS et al. Reinforcing effects of psychostimulants in humans are associated with increases in brain dopamine and occupancy of D(2) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;291:409-15.

Volkow ND, Fowler JS, Gatley SJ et al. Comparable changes in synaptic dopamine induced by methylphenidate and by cocaine in the baboon brain. *Synapse* 1999;31:59-66.

Volkow ND, Wang G, Fowler JS et al. Therapeutic doses of oral methylphenidate significantly increase extracellular dopamine in the human brain. *J Neurosci* 2001;21:RC121.

Volkow ND, Fowler JS, Wang G, Ding Y, Gatley SJ. Mechanism of action of methylphenidate: insights from PET imaging studies. *J Atten Disord.* 2002;6 Suppl 1:S31-43.

Voorn P, Gerfen CR, Groenewegen HJ. Compartmental organization of the ventral striatum of the rat: Immunohistochemical distribution of enkephalin, substance P, dopamine, and calcium-binding protein. *J Comp Neurol* 1989;289:189-201.

W

Wagner K. Uncoupling of oxidative phosphorylation by 6-hydroxydopamine. In: Malmfors T, Thoenen H. (Eds.), *6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons*. North-Holland, Amsterdam, 1971;277-8.

Wagner K, Trendelenburg U. Effect of 6-hydroxydopamine on oxidative phosphorylation and on monoamine oxidase activity. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol Exp Pathol* 1971; 269:110-16.

Walaas I, Fonnum F. The effects of surgical and chemical lesions on neurotransmitter candidates in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience* 1979;4:209-16.

Wang HY, Undie AS, Friedman E. Evidence for the coupling of Gq protein to D1-like dopamine sites in rat striatum: possible role in dopamine-mediated inositol phosphate formation. *Mol Pharmacol* 1995;48:988-94.

Wargin W, Patrick K, Kilts C et al. Pharmacokinetics of methylphenidate in man, rat and monkey. *J Pharmacol Exp Ther* 1983;226:382-6.

Watanabe M, Uchida H, Okada H et al. A high resolution PET for animal studies. *IEEE Trans Med Imag* 1992; 11:577-80.

Watanabe M, Okada H, Shimizu K et al. A high resolution animal PET scanner using compact PS-PMT detectors. *IEEE Trans Nucl Sci* 1997; 44:1277-82.

Weber S, Terstegge A, Herzog H, et al. The design of an animal PET: flexible geometry for achieving optimal spatial resolution or high sensitivity. *IEEE Trans Med Imaging* 1997;16:684-98.

Weckesser M, Hufnagel A, Ziemons K, et al. Effect of partial volume correction on muscarinic cholinergic receptor imaging with single-photon emission tomography in patients with temporal lobe epilepsy. *Eur J Nucl Med* 1997;24:1156-1161.

Weed MR, Gold LH. The effects of dopaminergic agents on reaction time in rhesus monkeys. *Psychopharmacology* 1998;137:33-42.

Weisenberger AG, Wojcik R, Bradley EL et al. SPECT-CT system for small animal imaging. *IEEE Trans Nucl Sci* 2003;50:74-9.

Westerink BHC, de Vries JB. On the mechanism of neuroleptic induced increase in striatal dopamine release: brain dialysis provides direct evidence for mediation by autoreceptors on nerve terminals. *Neurosci Lett* 1989;99:197-202.

White NM, Viaud M. Localized intracaudate dopamine D2 receptor activation during the post-training period improves memory for visual or olfactory conditioned emotional responses in rats. *Behav Neural Biol* 1991;55:255-69.

White NM, Packard MG, Seamans J. Memory enhancement by post-training peripheral administration of low doses of dopamine agonists: possible autoreceptor effect. *Behav Neural Biol* 1993;59:230-41.

Whone AL, Watts RL, Stoessl AJ et al. Slower progression of Parkinson's disease with ropinirole versus levodopa: the REAL-PET study. *Ann Neurol* 2003; 54:93-101.

Wiedemann DJ, Garriss PA, Near JA, Wightman RM. Effect of chronic haloperidol treatment on stimulated synaptic overflow of dopamine in the rat striatum. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;261:574-9.

Williams PJ, MacVicar BA, Pittman QJ. A dopaminergic inhibitory postsynaptic potential mediated by an increased potassium conductance. *Neuroscience* 1989;31:673-81.

Wilson SAK. Progressive lenticular degeneration: A familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver. *Brain* 1912;34:295-509.

Wirrwar A, Schramm N, Vosberg H, Müller-Gärtner HW. High resolution SPECT in small animal Research. *Rev Neurosci* 2001; 12:187-93

Wirrwar A, Schramm N, Nikolaus S et al. Implementation of a multipinhole collimator for *in vivo* imaging of rats. *IEEE NSS & MIC Conf Rec* 2003.

Wirrwar A, Arkian S, Nikolaus S, Larisch R, Müller HW, Schramm NU. First *in vivo* imaging of rats using a multipinhole collimator. *Mol Imaging Biol* 2004;6:91.

Wirrwar AK, Nikolaus S, Schramm NU, Arkian S, Cohnen M, Müller HW. TierSPECT: Leistungsparameter einer dedizierten Kleintier-SPECT-Kamera und erste *in vivo* Messungen. *Z Med Phys* 2005a;15:14-22.

Wirrwar A, Nikolaus S, Nouné MY, Schramm NU, Müller HW. Dual-Isotope-Studien von Labortieren mit Multipinhole-SPECT: Eine nuklearmedizinische Methode zur gleichzeitigen Akquisition funktioneller und anatomischer Information. Nuklearmedizin 2005b;44:P62.

Wirrwar A, Schramm N, Nikolaus S, Müller HW. Erste dynamische Studien des Rezeptorstoffwechsels von Ratten mit Multipinhole-SPECT. Nuklearmedizin 2006; 45: P86.

Wise SP, Murray EA, Gerfen CR. The frontal cortex-basal ganglia system in primates. Crit Rev Neurobiol 1996;10:317-56.

Wong DF, Wagner HN Jr, Pearlson G et al. Dopamine receptor binding of C-11-3-N-methylspiperone in the caudate in schizophrenia and bipolar disorder: a preliminary report. Psychopharmacol Bull 1985;21:595-8.

Wong DF, Wagner HN Jr, Tune LE et al. Positron emission tomography reveals elevated D2 dopamine receptors in drug-naïve schizophrenics. Science 1986;234:1558-63.

Wong DF, Gjedde A, Wagner HN et al. Quantification of neuroreceptors in the living human brain. II. Inhibition studies of receptor density and affinity. J Cereb Blood Flow Metab 1986;6:147-53.

Woods SK, Meyer JS. Exogenous tyrosine potentiates the methylphenidate-induced increase in extracellular dopamine in the nucleus accumbens: a microdialysis study. Brain Res 1991;560:97-105.

Wu AM, Yazaki PJ, Tsai S, et al. High-resolution microPET imaging of carcino-embryonic antigen-positive xenografts by using a copper-64-labeled engineered antibody fragment. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97:8495-500.

Wu JC, Inubushi M, Sundaresan G, Schelbert HR, Gambhir SS. Positron emission tomography

imaging of cardiac reporter gene expression in living rats. *Circulation*. 2002;106:180-3.

Wu MC, Da Silva AJ, Tang HR et al. An ultra high resolution ECG-gated myocardial imaging system for small animals. *IEEE Trans Nucl Sci* 1999; 46:1199-202.

Wu Y, Pearl SM, Zigmond MJ, Michael AC. Inhibitory glutamatergic regulation of evoked dopamine release in striatum. *Neuroscience* 2000;96:65-72.

www.bioscan.com

www.ctimi.com

www.gammamedica.com

www.ise-srl.com

www.medical.philips.com

www.oxpus.co.uk

www.raytest.de

X

Xu M, Hu XT, Cooper DC et al. Elimination of cocaine-induced hyperactivity and dopamine-mediated neurophysiological effects in dopamine D1 receptor mutant mice. *Cell* 1994;79:945-55.

Xu M, Moratalla R, Gold LH et al. Dopamine D1 receptor mutant mice are deficient in striatal expression of dynorphin and in dopamine-mediated behavioral responses. *Cell* 1994;77:729-42.

Y

Yamamoto S, Teng W, Nishizawa S, Kakiuchi T, Tsukada H. Improvement in cerebral blood flow and metabolism following subarachnoidal hemorrhage in response to prophylactic administration of the hydroxyl radical scavenger, AVS ($\pm$)N,N'-propylenediniticotinamide: a positron emission study in rats. *J Neurosurg* 2000; 92:1009-15.

Yang H, Berger F, Tran C, Gambhir SS, Sawyers CL. MicroPET imaging of prostate cancer in LNCAP-SR39TK-GFP mouse xenografts. *Prostate*. 2003;55:39-47.

Yoder KK, Hutchins GD, Morris ED, Brashear A, Wang C, Shekhar A. Dopamine transporter density in schizophrenic subjects with and without tardive dyskinesia. *Schizophr Res* 2004;71:371-5.

Yokoi T, Kishi H. Development of a high-resolution pinhole SPECT system using dual-head gamma camera for small animal studies. *Kaku Igaku* 1998;35:901-7.

Young AB, Penney JB, Starosta-Rubinstein S et al. PET scan investigations of Huntington's disease: cerebral metabolic correlates of neurological features and functional decline. *Ann Neurol* 1986; 20:296-303.

Young MWS, Bonner TI, Brann MR. Mesencephalic dopamine neurons regulate the expression of neuropeptide mRNAs in the rat forebrain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 9827-31.

Yukihiro M, Inoue T, Iwasaki T et al. Myocardial infarction in rats: high-resolution single-photon emission tomographic imaging with a pinhole collimator. *Eur J Nucl Med* 1996;23:896-900.

Z

Zaleska MM, Erecinska M. Role of sialic acid in synaptosomal transport of amino acid transmitters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:1709-12.

Zanzonico P, O'Donoghue J, Chapman JD et al. Iodine-124-labeled iodo-azomycin-galactoside imaging of tumor hypoxia in mice with serial microPET scanning. *Eur J Nucl Med Mol Imagin.* 2004;31:117-28.

Zeniya T, Watabe H, Aoi T et al. A new reconstruction strategy for image improvement in pinhole SPECT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004; 1:1166-72.

Zetterstrom T, Sharp T, Ungerstedt U. Effect of neuroleptic drugs on striatal dopamine release and metabolism in the awake rat studied by intracerebral dialysis. *Eur J Pharmacol* 1984;106:27-37.

Zetterstrom T, Sharp T, Collin AK, Ungerstedt U. In vivo measurement of extracellular dopamine and DOPAC in rat striatum after various dopamine-releasing drugs; implications for the origin of extracellular DOPAC. *Eur J Pharmacol* 1988;148:327-34.

Zhang L, Reith ME. Regulation of the functional activity of the human dopamine transporter by the arachidonic acid pathway. *Eur J Pharmacol* 1996;315:345-54.

Zhang N, Thompson CJ, Thompson CL, Nguyen KQ. Improving the performance of small planar detectors for dedicated PET instruments. *IEEE Trans Nucl Sci* 2002; 49:111-5.

Zheng QH, Stone KL, Mock BH et al. [11C]Choline as a potential PET marker for imaging of breast cancer athymic mice. *Nucl Med Biol.* 2002;29:803-7.

Zheng QH, Gardner TA, Raikwar S et al. [11C]Choline as a PET biomarker for assessment of

prostate cancer tumor models. *Bioorg Med Chem* 2004;12:2887-93.

Zheng QH, Fei X, Liu X et al. Comparative studies of potential cancer biomarkers carbon-11 labeled MMP inhibitors (S)-2-(4'- [11C]methoxybiphenyl-4-sulfonylamino)-3-methylbutyric acid and N-hydroxy-(R)-2-[[4'- [11C]methoxyphenyl)sulfonyl]benzylamino]-3-methylbutanamide. *Nucl Med Biol* 2004;31:77-85.

Zhou QY, Grandy DK, Thambi L et al. Cloning and expression of human and rat D1 dopamine receptors. *Nature* 1990;347:76-80.

Ziegler SI, Pichler BJ, Boening G et al. A prototype high-resolution animal positron tomograph with avalanche photodiode arrays and LSO crystals. *Eur J Nucl Med* 2001; 28:136-43.

Ziehen T. Das Zentralnervensystem der Monotremen und Marsupialier. Ein Beitrag zur vergleichenden makroskopischen und mikroskopischen Anatomie und zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte des Wirbeltiergehirns. In: Semon R. (Hrsg.), *Zoologische Forschungsreisen in Australien und dem malayischen Archipel. III. Monotremen und Marsupialier*. G. Fischer, Jena, 1897;677-728.

Ziemons K, Bauer A, Holschbach M et al. The CLEARPET[™] neuro scanner: a dedicated high performance LSO/LuYAP phoswich small animal PET scanner. *Mol Imaging Biol.* 2004; 6:102.

Zingone A, Seidel J, Aloj L et al. Monitoring the correction of glycogen storage disease type 1a in a mouse model using [(18)F]FDG and a dedicated animal scanner. *Life Sci.* 2002;71:1293-301.

5. ANHANG

Tab. I. Dedizierte Kleintier-PET-Systeme in chronologischer Reihenfolge. Aufgeführt sind Kameras, Systemkonfigurationen, Größe des FOVs, rekonstruierte räumliche Auflösung (FWHM, „Point-spread“-Funktion im zentralen FOV) und Sensitivität sowie die für die Auflösungs- und Sensitivitätsbestimmung verwendeten Quellen und Messparameter.

PET	Konfiguration	FOV	Auflösung	Sensitivität
(Tomitani et al., 1985)	Design: 1 Ring aus 64 Zwillingseinheiten (Ø 26.5 cm) Material: BGO Kristallgröße: 4 x 10 x 20 mm ³ Read-out: Hamamatsu R2080 (2 Kristalle/PMT) Rekonstruktion: n.m.	128 mm	2.2 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 2 mm)	30cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Æ 100 mm) <i>Schwelle: n.m.</i>
Donner 600-Crystal Tomograph (Derenzo et al., 1987)	Design: 1 Ring aus 600 Kristallen (Ø 60 cm) Material: BGO Kristallgröße: 240 Kristalle: 3 x 10 x 30 mm ³ (in einem Winkel von 45° beschnitten) 240 Kristalle: 3 x 10 x 23 mm ³ 120 Kristalle: 3 x 10 x 30 mm ³ Read-out: R647-01 (1 Kristall / PMT) Rekonstruktion: konvolvierte Rückprojektion	n.m.	2.6 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 0.35 mm)	189 cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Æ 200 mm) <i>Schwelle: 200 keV</i>
PCR-I (Brownell et al., 1989)	Design: 1 Ring aus 360 Kristallen (Ø 46 cm) Material: BGO Kristallgröße: 4 – 4.5 x 20 x 30 mm ³ Read-out: PMT; Typ n.r. (4 Kristalle/PMT) Rekonstruktion: konvolvierte Rückprojektion mit Ramp- oder Hanning-Filter	n.m.	4.5 mm <i>Punktquelle</i> <i>n.m.</i>	1243 cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Æ 200 mm) <i>Schwelle: n.m.</i>
VUB-PET (Tavernier et al., 1992)	Design: gasgefüllte (TMAE, He) zylindrische Drahtkammer (Ø 20 cm, Höhe: 5.2 cm) Material: BaF ₂ Kristallgröße: 3 x 3 x 20 mm ³ Kristallanzahl: 3000 (17 Kristalle/Einheit) Read-out: PMT (XP2020Q) Rekonstruktion: FBP mit Ramp-Filter	axial: 5.2 cm transaxial: 11 cm	3.8 mm <i>n.m.</i>	35 cps/kBq <i>n.m.</i> <i>Schwelle: 100 keV</i>
Hamamatsu SHR-2000 (Watanabe et al., 1992)	Design: 4 Ringe aus je 495 Kristallen (Ø 34.8 cm, 33 Kristalle/Detektormodul) Material: BGO Kristallgröße: 1.7 x 10 x 17 mm ³ Read-out: Hamamatsu R3941-02 (4 Detektormodule/PMT) Rekonstruktion: FBP mit Butterworth- und /oder Shepp-Logan-Filter	axial: 4.6 cm transaxial: 17 cm	3 mm <i>Punktquelle</i> (Æ 1mm)	559 cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Æ 100 mm) <i>Schwelle: 300 keV</i>
QPET (McKee et al., 1994)	Design: 2 planare rechteckige Drahtkammern an Drahtkammern gekoppelte Bleiphotonenkonverter mit Gasfüllung (CF ₄ und Isobutan) Modulgröße: 25.4 x 25.4 cm ² Read-out: „Low-Noise“-ladungssensitive Vorverstärker (LeCroy HQV101) und EPROM-Output Rekonstruktion: konvolvierte Rückprojektion	axial: 9 cm transaxial: 20 cm	2.7 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 0.8 mm)	0.65 cps/kBq <i>Punktquelle</i> <i>n.m.</i> <i>Schwelle: n.m.</i>
Sherbrooke APD-PET (Lecomte et al., 1994)	Design: 2 Ringe aus je 256 Detektoren (je 8 Module zu je 4 Kassetten; Ø 31 cm) Material: BGO Kristallgröße: 3 x 5 x 20 mm ³ Kristallanzahl: 512 (2 x 8 Kristalle/Kassette) Read-out: EG&G C30994 APD and MOFSET-basierte ladungssensitive Vorverstärker (2 Kristalle/APD) Rekonstruktion: FBP mit Ramp-Filter	axial: 1.05 cm transaxial: 11.8 cm	2.1 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 0.85 mm)	89 cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Æ 11 mm) <i>Schwelle: n.m.</i>

RATPET (Bloomfield et al., 1995)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	1 Ring aus 16 Detektoren (Ø 11.5 cm; 8 x 7 Kristalle/Detektor) BGO 2.99 x 5.95 x 30 mm ³ Hamamatsu R 1548 (1 Detektor/PMT) FBP mit Ramp-Filter	axial: 5 cm transaxial: 8.13 cm	2.34 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 1 mm)	9.9 cps/kBq <i>Linienquelle</i> (Æ 0.5 mm) <i>Schwelle: n.m.</i>
MicroPET (Cherry et al., 1996)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	1 Ring aus 30 Detektoren (Ø 17.2 cm; 8x8 Kristalle/Detektorblock) LSO 2 x 2 x 10 mm ³ Philips XP1722 (MC-PMT; 1 Detektor/MC-PMT) FBP mit Ramp-Filter oder 3D-MAP-Algorithmus	axial: 1.8 cm transaxial: 11.25 cm	1.8 mm <i>Punktquelle</i> (Æ 0.5 mm)	5.6 cps/kBq <i>Punktquelle</i> (Æ 1 mm) <i>Schwelle: n.m.</i>
Hamamatsu SHR-7700 (Watanabe et al., 1997)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	16 Ringe aus je 480 Kristallen (Ø 50.8 cm; 8x4 Kristalle/Detektormodul) BGO 2.8 x 6.95 x 30 mm ³ Hamamatsu R5900-C8 (1 Modul/PMT) FBP	axial: 1.14 cm transaxial: 33 cm	2.6 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 0.55 mm) <i>Punktquelle</i> (Æ 1 mm)	22.8 kcps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Æ 100 mm) <i>Schwelle: n.m.</i>
YAP-(S)PET (Del Guerra et al., 1998, www.ise-srl.com)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	2 orthogonale Blockdetektorpaare (20 x 20 Kristalle/Detektor) YAP 2 x 2 x 30 mm ³ Hamamatsu R2486-06 FBP mit Hanning-Filter	axial: 4 cm transaxial: 4 cm	1.8 mm <i>Punktquelle</i> (Æ 0.8 mm)	17.3 cps/kBq <i>Punktquelle</i> (Æ 0.8 mm) <i>Schwelle: 50 keV</i>
(Siegel et al., 1999)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	2 stationäre Detektoren (26 x 22 Kristalle/Detektor) BGO 2 x 2 x 10 mm ³ Hamamatsu R3941 FBP	axial: 5.5 cm transaxial: 4.5 cm	2.1 mm <i>2 Linienquellen</i> <i>n.m.</i>	3.51 cps/kBq <i>Punktquelle</i> <i>n.m.</i> <i>Schwelle: n.s.</i>
IndyPET-I (Rouze et al., 1999)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	2 Module aus je 8 Detektorblöcken (7 x 8 Kristalle/Block) BGO <i>n.m.</i> <i>n.m.</i> Bayes'scher Algorithmus	axial: 5 cm transaxial: 18 cm	3.2 mm <i>Linienquelle</i> <i>n.m.</i>	<i>n.m.</i>
(Correia et al., 1999)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	1 Ring aus 30 Detektorblöcken (Ø 12 cm; 12 Kristalle/Detektor) LSO 1 x 4.5 x 5 mm ³ RCA 647 (2 Detektorblöcke/ PMT) konvolvierte Rückprojektion	<i>n.m.</i>	1.25 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 0.42 mm)	0.24 cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Æ 0.5 mm) <i>Schwelle: 150 keV</i>
dual-HIDAC (Jeavons et al., 1999, www.oxpus.co.uk)	Design: Material: Modulgröße: Anordnung: Read-out: Rekonstruktion:	2 planare rechteckige HIDAC-Detektoren HIDAC-Module (an Drahtkammern Gekoppelte Bleiphotonenkonverter mit Gasfüllung (Argon und Diisopropyläther) 25 x 21 cm ² 6 HIDAC-Module/Detektor „Amplifier-per-wire-Centroid“-Technik FBP mit Ramp-Filter oder 3D-OSEM-Algorithmus	axial: 21 cm transaxial: 10 cm	0.95 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 0.13 mm)	918 cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Æ 55 mm) <i>Schwelle: 200 keV</i>
MicroPET® P4 (Tai et al., 2001, www.ctimi.com)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	4 Ringe mit je 42 Detektormodulen (Ø 26 cm; 8 x 8 LSO-Elemente/Detektor) LSO 2.2 x 2.2 x 10 mm ³ Hamamatsu R5900-C8 (1 LSO-Element/PMT) FBP mit Ramp-Filter	axial: 7.8 cm transaxial: 19 cm	1.8 mm <i>Punktquelle</i> (Æ 0.5 mm)	22.5 cps/kBq <i>Punktquelle</i> (Æ 1 mm) <i>Schwelle: 250 keV</i>
MADPET (Ziegler et al., 2001)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	Oktagon mit 6 Detektoren (Ø 8.6 cm; 2 x 8 Kristalle/Detektor) LSO 3.7 x 3.7 x 12 mm ³ Hamamatsu APD (2.6 x 2.6 mm ²) und „fast-charge“-sensitive Vorverstärker PWLS-Algorithmus	axial: <i>n.m.</i> transaxial: 6.8 cm	2.4 mm <i>Linienquelle</i> (Æ 0.5 mm)	0.35 cps/kBq <i>Linienquelle</i> (Æ 0.6 mm) <i>Schwelle: n.m.</i>

ANIPET (Zhang et al., 2002)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	2 planare Blockdetektoren BGO 1.9 x 1,9 x 6.5 mm ³ 1.9 x 1.9 x 11.5 mm ³ Hamamatsu R3941 (1 Detektor/PMT) FBP, OSEM	axial: 5.9 cm transaxial: 5.4 cm	2.8 mm <i>Punktquelle</i> (Δ 0.75 mm)	n.m.
MicroPET® R4 (Knoess et al., 2003)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	4 Ringe mit je 24 Detektormodulen ($\varnothing$ 14.8 cm; 8 x 8 LSO-Elemente/Detektor) LSO 2.1 x 2.1 x 10 mm ³ Hamamatsu R5900-C8 (1 LSO-Element/PMT) FBP mit Ramp-Filter	axial: 7.8 cm transaxial: 10 cm	1.8 mm <i>Punktquelle</i> (Δ 1 mm)	43.66 cps/kBq <i>Linien- /Punktquelle</i> (n.m. Schwelle: 250 keV)
ATLAS (Seidel et al., 2003)	Design: Material: Phoswich-Länge: Read-out: Rekonstruktion:	1 Ring aus 18 Detektormodulen ($\varnothing$ 11.8 cm; 9 x 9 x 2 Kristallschichten/Modul) LGSO/GSO Phoswich LGSO (7mm)/GSO(8mm) Hamamatsu R7600-C8 3D-OSEM, FBP	axial: 2 cm transaxial: 6 cm	1.5 mm <i>Punktquelle</i> n.m.	0.33 cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> n.m. Schwelle: 250 keV
IndyPET II (Rouze et al., 2003)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	3 Ringe mit jeweils 4 orthogonalen Module aus je 10 Detektorblöcken (7 x 8 Kristalle/Block) BGO 3.3 x 6.3 x 30 mm ³ n.m. Bayes'scher Algorithmus	axial: 15 cm transaxial: 23 cm	2.5 mm <i>Linienquelle</i> n.m.	9 cps/kBq <i>Linienquelle</i> n.m. Schwelle: 350 keV
A-PET, MOSAIC-PET (Surti et al., 2003, www.medical.philips.com)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	Ring ($\varnothing$ 21 cm; 16680 Kristalle) GSO 2 x 2 x 10 mm ³ PMT (Typ n.m.) 3D-Row-Action-Maximum-Likelihood- Algorithmus (RAMLA)	axial: 11.5 cm transaxial: n.r.	2 mm <i>n.m.</i>	6 cps/kBq <i>Linienquelle</i> (Δ < 0.5 mm) Schwelle: 410 keV
(Ortuño et al., 2003, Vaquero et al., 2004)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	Oktagon aus 8 Detektormodulen (35 x 30 Kristalle/Detektor) LYSO n.m. 1 Detektorblock/PMT FBP	axial: 4.8 cm transaxial: 4.8 cm	1.7 mm <i>n.m.</i>	9.5 cps/kBq <i>n.m.</i> Schwelle: 250 keV
quad-HIDAC (Missimer et al., 2004, www.oxpus.co.uk)	Design: Material: Modulgröße: Anordnung: Read-out: Rekonstruktion:	4 planare rechteckige HIDAC- Detektoren HIDAC-Module (an Drahtkammern Gekoppelte Bleiphotonenkonverter mit Gasfüllung (Argon und Diiso- propyläther) 25 x 21 cm ² 8 HIDAC-Module/Detektor „Amplifier-per-wire-Centroid“-Technik FBP mit Ramp-Filter	axial: 28 cm transaxial: 17 cm	1.1 mm <i>Punktquelle</i> (Δ 0.5 mm)	1500 cps/kBq/ml <i>Zylinderphantom</i> (Δ 55 mm) Schwelle: 200 keV
ClearPET™ (Ziemons et al., 2004, www.raytest.de)	Design: Material: Phoswich-Länge: Read-out: Rekonstruktion:	1 Ring aus 20 Detektormodulen ($\varnothing$ 12 cm; 8 x 8 x 2 Kristallschichten/Modul) LYSO/LuYAP Phoswich LYSO (10 mm)/LuYAP (10 mm) Hamamatsu R7600-M64 (4 Module/PMT) 3D-MLEM-Algorithmus	axial: n.m. transaxial: 1.8–19 cm	1.5 mm <i>n.m.</i>	n.m.
MicroPET®Focus ™220 (Tai et al., 2005)	Design: Material: Kristallgröße: Read-out: Rekonstruktion:	4 Ringe mit je 42 Detektormodulen ($\varnothing$ 26 cm; 12 x 12 LSO-Elemente/Detektor) LSO 1.5 x 1.5 x 10 mm ³ Hamamatsu R5900-C12 (1 LSO-Element/PMT) FBP oder OSEM	axial: 7.6 cm transaxial: 19 cm	1.3 mm <i>Punktquelle</i> (Δ 0.5 mm)	34 cps/kBq <i>Punktquelle</i> (n.m. Schwelle: 250 keV)

Tab. II. Dedizierte Kleintier-SPECT-Systeme in chronologischer Reihenfolge. Aufgeführt sind Kameras, Systemkonfigurationen, Größe des FOVs, rekonstruierte räumliche Auflösung (FWHM, „Point-spread“-Funktion im zentralen FOV) und Sensitivität sowie die für die Auflösungs- und Sensitivitätsbestimmung verwendeten Quellen und Messparameter.

SPECT	Konfiguration	FOV	FWHM	Sensitivität
FASTSPECT (Klein et al., 1995)	Kamera: 24 Detektoren auf 2 Ringen Material: NaI(Tl); Dicke: 50 mm Kollimator: PH (Wismut, Blei, Zinn, Kadmium; 24 PHs, Ø, 1mm) Read-out: PS-PMT; Typ n.m.; 1 Kristall/Detektor / 4 PMTs Rekonstruktion: MLEM	axial: 3.2cm transaxial: 3cm	1.5mm <i>Punktquelle: Ø, 1mm</i> <i>PH: Ø, 1mm</i> <i>Abstand: n.m.</i>	359cps/MBq <i>Punktquelle: Ø, 1mm</i> <i>PH: Ø, 1mm</i> <i>Abstand: n.m.</i>
TOHR (Valda-Ochoa et al., 1997)	Kamera: an einen fokussierenden Kollimator gekoppelter Detektorring; keine Rotation des Detektors oder Tieres Material: NaI(Tl); Dicke: n.s. Kollimator: Icosahedron aus 15 PHs (Wolfram; Ø, 0.4mm) Read-out: PMT; Typ n.m. Rekonstruktion: keine	axial: 7cm transaxial: 7cm	1.4mm <i>Punktquelle: V, 10µl</i> <i>PH: Ø, 0.4mm</i> <i>Abstand: 0-8mm</i>	n.m.
EKG-getriggertes PH-SPECT (Wu et al, 1999)	Kamera: Siemens ZLC 7500S; Tier rotiert Material: NaI(Tl); Dicke: n.m. Kollimator: PH (Material n.s.; Ø, 0.5mm) Read-out: n.m. Rekonstruktion: Feldkamp Cone-Beam-Algorithmus	n.m.	1mm <i>Kanten-Phantom: n.m.</i> <i>PH: Ø, 0.5mm</i> <i>Abstand: 10mm</i>	135cps/MBq <i>Punktquelle: n.m.</i> <i>PH: Ø, 0.5mm</i> <i>Abstand: 10mm</i>
YAP-(S)PET (Del Guerra et al., 2000)	Kamera: 2 rotierende Detektoren Material: YAP(Ce); Dicke: 2 mm Kollimator: Paralleloch (Blei; Ø, 0.6mm) Read-out: Hamamatsu R2486-06 (PS-PMT) Rekonstruktion: MLEM	axial: 4cm transaxial: 4cm	3.5mm <i>Linienquelle: Ø, 0.8mm</i> <i>Derenzo: Ø, 3, 2.5, 2, 1.5 mm</i> <i>Loch: Ø, 0.6mm</i> <i>Abstand: n.m.</i>	114cps/MBq <i>Linienquelle: Ø, 0.8mm</i> <i>Derenzo: Ø, 3, 2.5, 2, 1.5 mm</i> <i>Loch: Ø, 0.6mm</i> <i>Abstand: n.m.</i>
SemiSPECT (Kastis et al., 2000)	Kamera: 1 stationärer Halbleiterdetektor; Tier rotiert Material: CdZnTe; Dicke: 250mm. Kollimator: Paralleloch (Wolfram; Ø, 0.5mm) Read-out: Multiplexer mit Indium-Bump-Bonds Rekonstruktion: MLEM	2.5cm	1-2mm <i>Linienquelle: Ø, 2mm</i> <i>Loch: Ø, 0.5mm</i> <i>Abstand: 15mm</i>	n.m.
High-Resolution PH-SPECT (Habraken et al., 2001)	Kamera: ADAC ARC3000; Tier rotiert Material: NaI(Tl); Dicke: 9.5mm Kollimator: PH (Wolfram; Ø, 1, 2mm) Read-out: PMT; Typ n.s. Rekonstruktion: FBP mit Ramp-Filter (Feldkamp)	n.m.	1.34mm <i>Linienquelle: Ø, 0.2mm</i> <i>Multiple Linienquelle: Ø, 0.2mm</i> <i>PH: Ø, 1mm</i> <i>Abstand: 33mm</i>	735cps/MBq <i>Punktquelle: n.m.</i> <i>PH: Ø, 1mm</i> <i>Abstand: 1.6mm</i>
A-SPECT (Mac Donald et al., 2001)	Kamera: Luma-GEM (1 oder 2 stationäre Detektoren); Tier rotiert Material: NaI (Tl); Dicke: 2mm Kollimator: PH (Wolfram; igs. 2 PHs, Ø, 1, 2, 3mm) Read-out: PS-PMT; Typ n.m. Rekonstruktion: MLEM	axial: 12.5cm transaxial: 12.5cm	1.1-4.7mm <i>Linienquelle: Ø, 0.025, 1.4 mm</i> <i>PH: Ø, 1, 3mm</i> <i>Abstand: 2.4, 7mm</i>	750cps/MBq <i>Punktquelle: Ø, 2 mm</i> <i>PH: Ø, 3mm</i> <i>Abstand: 20mm</i>
X-SPECT (www.gam-mamedica.com)	Kamera: 2 rotierende Detektoren Material: NaI(Tl); Dicke: 2mm Kollimator: PH (Wolfram; igs. 2 PHs, Ø, 0.5, 1, 2 mm) Read-out: PS-PMT; Typ n.m. Rekonstruktion: OSEM	axial: 12.5cm transaxial: 12.5cm	0.6-2.5mm <i>Quelle: n.m.</i> <i>PH: Ø, 0.5, 1, 2 mm</i> <i>Abstand: 10-40mm</i>	7-855cps/MBq <i>Quelle: n.m.</i> <i>PH: Ø, 0.5, 1, 2 mm</i> <i>Abstand: 10-30mm</i>

CoALA-SPECT (Meikle et al., 2003)	Kamera: 2 rotierende Detektoren Material: NaI(Tl); Dicke: 5mm Kollimator: Single-oder Multi-PH (Wolfram, 1-6 Löcher/Kolimator, Ø, 0.7mm) Read-out: PS-PMT (Hamamtsu R3292) Rekonstruktion: MAP	axial: 12cm transaxial: 12cm	≈ 1-2.5mm <i>simulierte Linienquelle</i> Abstand: 20-30mm	n.m.
(Loudos et al., 2003)	Kamera: 1 stationärer Detektor; Tier rotiert Material: CsI(Tl); Dicke: n.m. Kollimator: Parallelloch (Material n.m.; Ø, 1.22mm) Read-out: PS-PMT (Hamamtsu R2486) Rekonstruktion: MLEM, OSEM	axial: 4.5cm transaxial: 4.5cm	2-3mm <i>multiple Linienquellen: Ø, 1.1 mm</i> Abstand: n.m.	n.m.
(Taylor et al., 2004)	Kamera: 1 Detektor und 1 faseroptische Platte, die mittels optischer Linsen an einen CCD gekoppelt sind; Tier rotiert Material: CsI(Tl); Dicke: 0.6mm Kollimator: Parallelloch (Material n.m.; Ø, 0.2mm) Read-out: n.m. Rekonstruktion: MLEM	n.m.	0.1-0.4mm <i>Quelle: n.m.</i> <i>Loch: Ø, 0.2mm</i> <i>Abstand: n.s.</i>	n.m.
(Sohlberg et al., 2004)	Kamera: Siemens Orbiter (Typ n.m.); Tier rotiert Material: NaI(Tl); Dicke: n.m. Kollimator: PH (Material n.s. Ø, 1, 4mm) Read-out: n.m. Rekonstruktion: H-MRP	n.m.	1.8mm <i>Linienquelle: Ø, 0.5mm</i> <i>Multiple Linienquelle: n.m.</i> <i>PH: Ø, 1mm</i> Abstand: 54mm	21cps/MBq <i>Punktquelle: n.m.</i> <i>PH: Ø, 1mm</i> Abstand: 54mm
(Zeniya et al., 2004)	Kamera: Toshiba CGA-7111A; Tier rotiert (0° u. 45°) Material: NaI(Tl); Dicke: n.m. Kollimator: PH (Wolfram; Ø, 0.25, 1mm) Read-out: n.m. Rekonstruktion: OSEM (für 2 Umlaufbahnen)	n.m.	2.05-2.97mm <i>Multiples Scheiben-Phantom: Ø, 13mm</i> <i>PH: Ø, 1mm</i> Abstand: 93mm	n.m.
U-SPECT-I (Beekman et al., 2005)	Kamera: Prism 3000S (Kamera und Tier stationär) Material: NaI(Tl); Dicke: n.m. Kollimator: Zylinder mit 75 PHs (Gold; Ø, 0.6mm) Read-out: n.m. Rekonstruktion: MLEM	n.m.	0.5mm <i>Dereno-Phantom: Ø, 0.4 – 1mm</i> <i>PH: Ø, 0.6mm</i> Abstand: n.m.	2200cps/MBq <i>Punktquelle: n.m</i> <i>PH: Ø, 0.6mm</i> Abstand: n.m.
NanoSPECT (www.bioscan.com)	Kamera: 1, 2 oder 4 rotierende Gammakameras Material: NaI(Tl); Dicke: n.m. Kollimator: Multi-PH (Wolfram, 7, 10 Löcher; Ø, 1, 1.5mm) Read-out: 33PMTs (bei 4 Detektoren; Typ n.m) Rekonstruktion: MLEM	axial: 2.3cm transaxial: 2.15cm	0.8-1.2mm <i>μ-Jaczzak-Phant: Ø, 20mm.</i> <i>Pinhole: n, 7, 10; Ø, 1, 1.5mm</i> Abstand: n.m.	2500cps/MBq <i>μ-Jaczzak-Phant: Ø, 20mm</i> <i>Pinhole: n, 10; Ø, 1.5mm</i> Abstand: n.m.

Tab. III. Mit Single- oder Multipinholekollimatoren aufgerüstete klinische SPECT-Scanner. Wiedergegeben sind Art der Kollimation, Anzahl der Kollimatoren, Aperturdurchmesser, Rotationsradius (ROR), rekonstruierte räumliche Auflösung (FWHM), Sensitivität sowie die Messparameter für die Auflösungs- und Sensitivitätsbestimmung.

SPECT	PH	Apertur Ø	ROR	Rekonstruktion	FWHM	Sensitivität
Toshiba CGA 901A (Strand et al., 1993)	1 Single Material n.m.	2, 3.3mm	45mm	Cone-beam FBP	2.2 – 3.4mm Linienquelle: Ø, 1mm Multiple Linienquelle: Ø, 0.58 mm Pinhole: Ø, 2mm Abstand: 10-150mm	0.28kcps/MBq Scheiben-Phantom: Ø, 2mm Pinhole: Ø, 2mm Abstand: 20mm
(Yukihiro et al., 1996)	1 Single Material n.m.	2, 3.3mm	40mm	Cone-beam FBP	2.2 – 3.4mm s.o.	0.28kcps/MBq s.o.
Trionix Triad (Jaczak et al., 1994)	1 Single Blei	0.6, 1.2, 2mm	40mm	Cone-beam FBP/ MLEM	1.5 – 2.8mm Linienquelle: Ø, 1mm Pinhole: Ø, 0.6, 1.2, 2 mm Abstand: 10-110mm	24 – 154cps/MBq Linienquelle: Ø, 1mm Pinhole: Ø, 0.6, 1.2, 2 mm Abstand: 10-110mm
Hitachi 2000H (Ishizu et al., 1995)	4 Single Blei	1, 2, 4mm	40, 50mm	FBP	1.65-4.15mm Multiple Linienquelle: Ø, 1mm Pinhole: Ø, 1, 2, 4mm Abstand: 40, 50mm	11-115kcps/MBq Zylinderphantom: Ø, 4.8mm Pinhole: Ø, 1, 2, 4mm Abstand: 40, 50mm
Toshiba 7200 A (Ogawa et al., 1998)	Single Wolfram	1mm	40mm	Feldkamp	1.1-1.3mm Punktquelle: Ø, 1mm Pinhole: Ø, 1mm Abstand: 10-80mm	81cps/MBq Punktquelle: Ø, 1mm Pinhole: Ø, 1mm Abstand: 10-80mm
Prism 2000XP (Yokoi & Kishi, 1998)	1 Single Material n.m.	1mm	40, 50mm	n.s.	1.65 – 1.91 mm Linienquelle: n.s. Pinhole: Ø, 1mm Abstand: 40, 50mm	5.7 – 8.5 kcps/MBq/ml Linienquelle: n.s. Pinhole: Ø, 1mm Abstand: 40, 50mm
(Wirrwar et al., 2003)	1 Single 1 Multi Wolfram (7 Löcher)	1, 2mm	50mm	MLEM	0.9 – 1.8mm μ -Jaczszak-Phant.: Ø, 1.5-3mm Pinhole: n, 1, 7; Ø, 1, 2mm Abstand: 0-100mm	60-500cps/MBq μ -Jaczszak-Phant: Ø, 1.5-3mm Pinhole: n, 1, 7; Ø, 1, 2mm Abstand: 0-100mm
Prism 3000XP (Acton et al., 2002a)	3 Single Wolfram	0.5, 1, 2, 3mm	30mm	SART	0.8 – 3.7mm Linienquelle: Ø, 0.8mm MicroSPECT-Phantom: Ø, 1.2, 1.6, 2.4, 3.2, 4 mm Pinhole: Ø, 0.5, 2, 3mm Abstand: 0.51-50mm	0.34 – 4kcps/MBq/ml Zylinder-Phantom: Ø, 13mm Pinhole: Ø, 0.5, 2, 3mm Abstand: 0.51-50mm
Siemens Orbiter ZLC 3700 (Scherfler et al., 2002)	1 Single Material n.m.	2mm	45mm	Cone-beam FBP	3mm Multiple Linienquelle: Ø, 0.7mm Pinhole: Ø, 2mm Abstand: 45mm	81cps/MBq Scheiben-Phantom: Ø, 2.3mm Pinhole: Ø, 2mm Abstand: 45mm
Siemens ECAM 180 (Schramm et al., 2003)	1 Single 1 Multi Wolfram (7, 10, 14 Löcher)	1.5mm	45mm	MLEM	1.2-1.4mm μ -Jaczszak-Phant: Ø, 1.5-3mm Pinhole: n, 1, 7, 10; Ø, 1.5mm Abstand: 35, 50mm	90 – 700cps/MBq μ -Jaczszak-Phant: Ø, n.m. Pinhole: n, 1, 7, 10; Ø, 1.5mm Abstand: 35, 50mm

